

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

---

## LES LEISHMANIOSES CHEZ LES ANIMAUX

par A. LAVERAN.

(Avec les planches I et II.)

### IV. — INFECTIONS NATURELLES OU EXPÉRIMENTALES PRODUITES CHEZ DIFFÉRENTES ESPÈCES ANIMALES PAR LA *LEISHMANIA TROPICA* (1)

#### A. — Infection naturelle du chien par la *Leishmania tropica*.

Plusieurs observateurs ont signalé l'existence chez les chiens, dans les pays où le bouton d'Orient est endémique, de lésions cutanées analogues à celles qu'on observe chez l'homme et, dans un certain nombre de cas, il a été démontré que ces lésions étaient dues à la présence de *Leishmania tropica* ou d'une *Leishmania* très voisine de cette espèce.

Les chiens de Delhi (Inde) présentent assez souvent des ulcères qui rappellent ceux que produit chez l'homme le bouton de Delhi; James a trouvé dans le pus de ces ulcères des spirilles en grand nombre qui sont peut-être les agents de la maladie (2).

Dschunkowsky et Luhs ont observé, en Transcaucasie, un

(1) Voir pour les premières parties du travail ces *Annales*, t. XXVIII, p. 823 et p. 885 et t. XXIX, p. 1.

(2) S.-P. JAMES, *Scientific Mem. by Offic. of the med. a. sanit. Dep. of the Gov. of India*, 1905, N. S., n<sup>o</sup> 13.

chien très amaigri et anémié qui avait des ulcérations de la peau et des muqueuses; des *Leishmania* nombreuses existaient dans la rate, dans le foie et surtout dans la moelle osseuse; les auteurs ont recherché en vain ces parasites dans les ulcérations (1).

Neligan, le premier, a démontré qu'on observe chez le chien des lésions cutanées produites par une *Leishmania*. A Téhéran, le bouton d'Orient est commun chez le chien, comme chez l'homme, mais chez les chiens les *Leishmania* ne se trouvent pas seulement dans les lésions cutanées, elles se montrent aussi dans la rate, dans le foie et dans la moelle osseuse (2). S'agit-il d'une infection généralisée par *L. tropica* ou d'une infection mixte par *L. tropica* et par *L. Donovan*? Neligan pose la question. Une infection généralisée produite par la *L. tropica* semble peu probable; d'autre part, il est difficile de croire à une association, chez le chien, des infections dues à *L. tropica* et à *L. Donovan*, alors que cette association ne s'observe jamais chez l'homme. Il y a une troisième hypothèse à faire, c'est que, peut-être, la leishmaniose cutanée du chien est produite par une troisième espèce de *Leishmania*, ou du moins par une variété de la *L. tropica*; on verra plus loin que cette hypothèse a été faite.

Pedroso a observé, au mois de juillet 1912, dans la région nord-ouest du Brésil, 2 chiens qui avaient des ulcérations de la muqueuse nasale (3). L'un des chiens a été trouvé dans un village où il n'y avait qu'un cas de leishmaniose chez l'homme; le malade était atteint d'ulcérations du nez et de la gorge dont le début remontait à 5 années. Le chien était en mauvais état, il portait, en outre de l'ulcération siégeant sur les bords de la narine gauche, des ulcérations cutanées; des frottis faits avec le produit du raclage de l'ulcération nasale permirent de constater l'existence de nombreuses *Leishmania*, identiques à celles du malade. Le maître de l'autre chien avait un ulcère du pied diagnostiqué leishmaniose, et il faisait

(1) E. DSCHUNKOWSKY et J. LUHS, IX<sup>e</sup> Congrès internat. de méd. vétér., La Haye, septembre 1909.

(2) A.-R. NELIGAN, *Jl. of trop. med.*, 15 mai 1913 et G.-M. WENYON, *Transact. of the Soc. of trop. med. a. hyg.*, juin 1914, t. VII, p. 215.

(3) A.-M. PEDROSO, *Annaes Paulistas de Medicina e Cirurgia*, septembre 1913.

lécher cet ulcère par son chien qui se serait infecté ainsi directement, mais il est à noter que, dans ce second cas, l'examen histologique de l'ulcération nasale du chien n'a pas été fait, et que le diagnostic ne repose que sur l'aspect macroscopique de cette ulcération et sur les circonstances étiologiques.

G. Vianna qui a examiné une coupe de la peau du nez du premier chien de Pedroso, infecté de leishmaniose, dit avoir vu des *Leishmania* dans les muscles lisses d'une artériole; d'après lui, la *L. brasiliensis* serait voisine du *Schizotrypanum Cruzi* (1).

Yakimoff et Schokhor ont publié l'observation d'un chien du Turkestan qui était atteint de leishmaniose cutanée (2). Le chien, très amaigri, au poil rare, avait une conjonctivite purulente et présentait des ulcères sur le dos et sur un côté du cou. Les *Leishmania* trouvées dans les ulcérations atteignaient parfois 7  $\mu$  85 de long, sur 2  $\mu$  35 de large, dimensions de beaucoup supérieures à celles de la *L. tropica*; les auteurs proposent de donner à l'agent de la leishmaniose cutanée du chien au Turkestan le nom de *L. tropica* var. *canina*.

En somme, la leishmaniose cutanée naturelle du chien est rare, et quelques-uns des faits signalés semblent se rapporter à une ou à plusieurs *Leishmania* différant de *L. tropica*. Nous allons voir cependant que la *L. tropica* est inoculable au chien.

#### B. — Infections expérimentales produites chez différentes espèces animales par la *Leishmania tropica*.

CHIEN. — Le bouton d'Orient est inoculable de l'homme au chien (3). 4 chiens inoculés par Nicolle et Manceaux sur des malades qui avaient contracté leurs boutons en Tunisie se sont infectés. Les inoculations intradermiques avaient porté sur le front, sur le nez ou sur l'une des paupières supérieures

(1) GASPAR VIANNA, *Memorias do Inst. Oswaldo Cruz*, 1914, t. VI, p. 40.

(2) W.-L. YAKIMOFF et N.-L. SCHOKHOR, *Soc. de path. exotique*, 11 mars 1914.

(3) C. NICOLLE et L. MANCEAUX, *Acad. des Sciences*, 4 avril 1910, et *Annales de l'Inst. Pasteur*, septembre 1910.



des chiens. Après une incubation de 36 à 37 jours, on vit apparaître, aux points d'inoculation, des boutons indurés qui présentèrent une évolution tout à fait comparable à celle des boutons d'Orient chez l'homme, d'une durée de 20 à 63 jours. On trouvait, à l'examen histologique des boutons, des *Leishmania* typiques et l'ensemencement donnait des cultures de flagellés.

L'inoculation, dans le péritoine du chien, de grandes quantités de cultures de *L. tropica* n'a rien donné; un chien de 6 kilogrammes qui avait reçu chaque jour, pendant 5 jours, dans la cavité péritonéale ou dans le foie, 20 cultures de *L. tropica*, soit 100 cultures, ne s'est pas infecté; 3 mois après les inoculations, le chien a été sacrifié et on n'a trouvé aucune *Leishmania* dans les viscères ni dans la moelle osseuse.

L'inoculation, dans la peau du nez d'un chien, de cultures du bouton d'Orient du chien, a donné un résultat positif; après une incubation de 80 jours, on a vu apparaître 2 boutons.

Une première atteinte du bouton laisse à sa suite, chez le chien, un état d'immunité évident, écrivent Nicolle et Manceaux, mais ce résultat n'est obtenu que si la guérison du premier bouton est complète; si la guérison est incomplète ou trop récente au moment de l'inoculation d'épreuve, il y a, au contraire, sensibilisation et la période d'incubation est raccourcie. Chez un chien réinoculé le lendemain de l'apparition de son premier bouton, il y a eu réinfection rapide (incubation 8 jours) et grave; un autre chien réinoculé avec son propre bouton en pleine activité a été réinfecté.

Dans un travail postérieur, C. Nicolle et L. Manceaux constatent que l'immunité conférée par une première inoculation expérimentale de *L. tropica* ne paraît ni bien solide ni bien durable chez le chien (1); ils citent l'exemple d'un chien guéri d'un double bouton qui, inoculé 5 mois et demi plus tard avec le virus humain, a présenté, après une incubation de 28 jours, un bouton très net, alors qu'un singe et un chien neufs, inoculés dans les mêmes conditions, ne s'infectaient pas.

Nicolle et Manceaux ont obtenu des passages en série du bouton d'Orient de chien à chien et de singe à chien, ce qui

(1) C. NICOLLE et L. MANCEAUX, *Soc. de path. exotique*, 8 mars 1911.

leur a permis de garder le virus pendant plus d'une année au laboratoire.

Wenyon a réussi à inoculer à un chien la leishmaniose cutanée américaine, par introduction directe dans le derme du virus humain; un jeune chien, inoculé dans la veine, ne s'est pas infecté (1).

J'ai inoculé sans succès 2 chiens avec une culture de *L. tropica* obtenue d'un bouton de Delhi qui m'avait été envoyée de l'Inde par le D<sup>r</sup> Row; les premières inoculations avaient été pratiquées en différents points du corps, dans le derme ou dans le tissu conjonctif sous-cutané; des injections de fortes doses de cultures faites ensuite dans les veines restèrent aussi sans résultat.

J'ai obtenu, au contraire, de beaux boutons chez les chiens en les inoculant sur des rats ou des souris infectés avec la *L. tropica* d'origine africaine, comme le prouve l'observation résumée ci-après.

Le mode le plus pratique d'inoculation du bouton d'Orient chez le chien me paraît être le suivant: on rase la base d'une oreille et, avec un vaccino-style chargé de virus, on fait 2 à 3 piqûres dans le derme. On peut aussi, chez les jeunes chiens dont la peau n'est pas dure, faire des inoculations à la face externe de la cuisse préalablement rasée.

Le chien qui fait l'objet de l'observation suivante a été présenté à la Société de pathologie exotique dans la séance du 9 décembre 1914.

Un chien âgé de 4 mois est inoculé, le 30 octobre 1914, avec le produit du broyage d'un testicule de rat contenant des *Leishmania* en grand nombre; à l'aide d'un vaccino-style chargé de virus je fais 3 piqûres à la base de l'oreille droite préalablement rasée. — 7 novembre, on ne constate encore rien aux points d'inoculation; je réinocule le chien avec le testicule d'une souris contenant des *Leishmania* en grand nombre; à l'aide d'un vaccino-style chargé de virus, je fais 3 piqûres à la base de l'oreille gauche préalablement rasée, et avec la seringue de Pravaz j'injecte dans le derme, en 3 points de la face externe de la cuisse gauche, quelques gouttes du produit du broyage du testicule de la souris dilué dans l'eau physiologique. — 13 novembre, on sent un petit nodule à la base de l'oreille droite, au niveau d'une des piqûres d'inoculation. — 24 novembre, le nodule cutané de la base de l'oreille droite a grossi, il a le volume d'un grain de chènevis. La peau de la cuisse gauche,

(1) C.-M. WENYON, *Jl. London School of trop. medicine*, avril 1913.



à la face externe, est épaissie et indurée au niveau des points d'inoculation. — 26 novembre, le bouton de l'oreille droite est ponctionné et dans le frottis fait avec le produit de la ponction je constate l'existence de *Leishmania* en grand nombre, libres ou incluses dans des éléments anatomiques qui en sont souvent bourrés. — 29 novembre, le bouton de l'oreille droite a grossi, il a le volume d'un pois, il se forme de petites croûtes à la partie saillante ; on sent à côté un autre nodule, très petit. — 3 décembre, le premier bouton de l'oreille droite a pris le volume d'un gros pois et le deuxième bouton grossit. A la cuisse gauche, l'épaississement et l'induration de la peau augmentent aux points d'inoculation, sans qu'on sente des boutons distincts comme à l'oreille. — 4 décembre, on sent un nodule à la base de l'oreille gauche au niveau d'un des points d'inoculation. Je ponctionne les 2 boutons de l'oreille droite et je constate, dans les produits des ponctions, l'existence de *Leishmania* en grand nombre. Je fends le plus gros bouton de l'oreille droite et, avec le produit de grattage, j'inocule un chien à l'oreille et à la cuisse droites. — 6 décembre, le bouton incisé suppure ; un troisième bouton s'est développé à l'oreille droite ; le bouton de l'oreille gauche grossit. — 10 décembre, des croûtes se forment à la surface des boutons de l'oreille droite et, au-dessous, on trouve un peu de pus. A la cuisse gauche, il existe des indurations de la peau au niveau des points d'inoculation. Une ponction faite au niveau d'une de ces indurations donne une goutte de sérosité sanguinolente, contenant des *Leishmania* en assez grand nombre. Une goutte d'exsudat recueillie à la surface d'un bouton ulcéré de l'oreille droite montre des *Leishmania* nombreuses, et en bon état, malgré l'existence de la suppuration. — 12 décembre. Les boutons de l'oreille droite sont toujours couverts de croûtes. Le bouton de l'oreille gauche a augmenté de volume. On sent très nettement 3 boutons à la cuisse gauche, aux points d'inoculation. — 28 décembre. Les boutons de l'oreille droite sont en bonne voie de cicatrisation ; la sérosité fournie par un de ces boutons ne contient plus de *Leishmania*. Les boutons de l'oreille et de la cuisse gauches diminuent de volume. — 20 janvier 1915, tous les boutons sont en bonne voie de régression.

Le chien inoculé le 4 décembre 1914 sur le précédent présente, à la date du 20 janvier 1915, un bouton de la grosseur d'un grain de chènevis à l'un des points d'inoculation de l'oreille droite. Une ponction de ce bouton donne une goutte de sérosité sanguinolente contenant des *Leishmania* non rares.

Une jeune chienne inoculée, comme le chien qui fait l'objet de l'observation précédente sur une souris infectée de *L. tropica* (V. plus loin SOURIS) a présenté également de beaux boutons avec *Leishmania* nombreuses.

CHAT. — Un chat inoculé directement par Wenyon avec le virus emprunté à un bouton d'Orient a eu 2 nodules avec *Leishmania*, aux points d'inoculation (1).

Nicolle et Manceaux ont inoculé sans succès 2 chats avec la *L. tropica*.

(1) C.-M. WENYON, *Op. cit.*

SINGES. — Nicolle et Sicre ont réussi, les premiers, à inoculer le bouton d'Orient au singe (1). Un *Macacus sinicus* a été inoculé, le 25 mars 1908, sur un chamelier nègre atteint depuis trois mois de boutons d'Orient contractés à Tébessa (Algérie); les inoculations intradermiques ont été faites dans les régions suivantes : paupières supérieures, arcades sourcilières et racine du nez.

Les lésions qui ont commencé à se montrer le 19 avril, 24 jours après l'inoculation, sont décrites comme il suit par MM. Nicolle et Sicre : « Du côté de l'arcade sourcilière du côté droit, la seule lésion produite a été un petit élément de 3 à 4 millimètres de diamètre, rougeâtre, ferme et non douloureux; le 1<sup>er</sup> mai, nous le trouvons légèrement excorié; le 4 mai, il est complètement guéri.

« Les lésions des deux paupières et de la racine du nez ont présenté une évolution parallèle plus caractéristique et identique, sauf la durée, à celle du bouton d'Orient humain. Elles ont débuté par la production d'une petite tache rouge sombre avec induration très légère et très limitée de la peau. A cette tache a fait suite une papule rapidement couverte de fines squames. En augmentant de volume, la lésion a pris l'aspect d'un petit tubercule dur, bien limité, non douloureux à la pression. L'accroissement des boutons a continué jusqu'au 1<sup>er</sup> mai (13<sup>e</sup> jour), leurs caractères restant sensiblement les mêmes. Ces éléments mesurent alors de 6 à 8 millimètres de diamètre et l'on observe, autour d'eux, une très légère zone œdématiée et érythémateuse. Les jours suivants, les trois boutons ont commencé à suinter, probablement à la suite d'excoriations dues au grattage; le liquide qui s'en écoule est clair; il se concrète en petites croûtes jaunâtres. État stationnaire jusqu'au 4 mai. A cette date, l'aspect est celui du clou de Gafsa ulcéré; lorsqu'on soulève la croûte, on trouve au-dessous une petite ulcération, à bords assez réguliers, et assez profonde. Une légère suppuration s'est ensuite établie, puis les lésions ont très rapidement évolué vers la guérison. Celle-ci était complète le 9 mai. Nous n'avons observé à la suite aucune

(1) C. NICOLLE et A. SICRE, *Soc. de Biologie*, 20 juin 1908 et *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*, juillet 1908.



cicatrice définitive. La durée de ces lésions a donc été de 21 jours. »

L'examen d'un petit fragment de tissu prélevé sur le bouton de la racine du nez a permis de constater l'existence de *Leishmania* typiques, et l'ensemencement du même bouton dans le milieu de Novy simplifié a donné une culture caractéristique de flagellés.

Nicolle et Manceaux ont inoculé avec succès au moyen du virus humain du bouton d'Orient : un *Macacus cynomolgus* (incubation 37 jours, durée du bouton 26 jours) ; un *M. rhesus* (incubation 101 jours, durée une dizaine de jours) ; un *M. inuus* (incubation 37 jours, durée 11 jours). 3 *M. sinicus* inoculés dans le derme, avec des cultures de la *L. tropica*, se sont également infectés (incubation 38 à 68 jours, durée des boutons 38 à 90 jours). Les lieux d'élection pour les inoculations intradermiques ou par scarifications superficielles de la peau sont, d'après Nicolle et Manceaux, les arcades orbitaires, la base du nez et les paupières supérieures (1).

Les inoculations faites dans la cavité péritonéale et dans le foie ont donné des résultats négatifs, malgré les fortes doses de cultures employées.

Avec le virus des boutons du singe, les auteurs ont pu obtenir l'inoculation du singe en série (3 passages) et, 2 fois, celle de l'homme ; dans un de ces cas, l'incubation a été exceptionnellement longue puisqu'elle a atteint 7 mois.

Le passage de singe à chien a aussi réussi.

Un singe réinoculé, 10 jours après guérison de son premier bouton expérimental, avec un virus très actif pour un témoin, ne s'est pas réinfecté.

Une première atteinte du bouton d'Orient confère au singe un certain degré de résistance, mais non une immunité complète, contre le virus du kala-azar (2).

« Une atteinte expérimentale de bouton d'Orient, écrit Nicolle, vaccine contre le bouton d'Orient, mais ne confère qu'un certain degré de résistance vis-à-vis du kala-azar ; une première atteinte du kala-azar vaccine contre le kala-azar et

(1) C. NICOLLE et L. MANCEAUX, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, septembre 1910, t. XXIV, p. 682 et p. 699 et *Soc. de path. exotique*, 8 mars 1911.

(2) C. NICOLLE et L. MANCEAUX, *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*, 1909, p. 193.



contre le bouton d'Orient. Dans ces expériences, trop peu nombreuses pour que leur signification soit absolue, le virus du kala-azar semble se comporter par rapport à celui du bouton d'Orient, comme un virus fort par rapport à un virus faible » (1).

R. Row a inoculé un *Macacus sinicus*, par scarifications, avec un bouton humain de Cambay (Inde). Au bout de 2 mois, 3 petits nodules apparurent aux points d'inoculation; au bout de 15 jours, les nodules avaient le volume de têtes d'épingles. Un des nodules fut incisé et, dans le liquide séro-sanguinolent recueilli sur la surface de section, on trouva de nombreuses *Leishmania* plus grandes que celles des boutons humains. Le contenu d'un des boutonsensemencé donna une belle culture qui fut inoculée à un singe avec résultat négatif. Au contraire, des singes inoculés directement avec le contenu des boutons du premier singe s'infectèrent (2).

R. Row constate que les résultats de ses expériences diffèrent un peu de ceux qui ont été obtenus par Nicolle quant à la durée de l'incubation et des lésions, aux caractères des boutons et au nombre des parasites; ces différences paraissent être sans importance (3).

Le singe infecté par Row a pu être réinfecté avec le virus du bouton d'Orient un mois après l'apparition des premières lésions.

On a vu, dans une autre partie de ce travail, que R. Row avait réussi à produire des boutons chez des singes avec le virus du kala-azar indien, comme avec le virus du bouton d'Orient, ce qui tendrait à rapprocher la *L. Donovanii* de la *L. tropica*.

Wenyon a inoculé un babouin avec la leishmaniose cutanée d'origine américaine (4).

F. Sant'Anna a infecté, avec le virus d'un cas de leishmaniose cutanée de l'Amazone, deux cercopithèques par inoculation dans la peau de la région sus-orbitaire. Chez un des singes, l'ulcère qui s'est développé au point d'inoculation a

(1) C. NICOLLE, *Rapport au Congrès d'Hygiène et de Démographie de Washington*, sept. 1912 et *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*, 1912, p. 221.

(2) R. Row, *Brit. med. Journal*, 24 septembre 1910, p. 867.

(3) W.-B. LEISHMAN, *The quarterly Jt. of med.*, octobre 1911.

(4) C.-M. WENYON, *Jl. London School of trop. med.*, juillet 1912.

guéri rapidement, l'autre singe a été atteint d'une ulcération qui s'est beaucoup étendue. Un singe inoculé sur le bord des narines, avec le virus emprunté à l'un des cercopithèques, s'est également infecté (1).

J'ai réussi à infecter des singes : 1° au moyen de cultures du bouton de Delhi que je devais à l'obligeance du D<sup>r</sup> Row, de Bombay ; 2° au moyen du virus fourni par des souris infectées avec des cultures de la *L. tropica* provenant de l'Institut Pasteur de Tunis.

6 *Macacus cynomolgus*, 2 *M. sinicus* et 1 *Cynocephalus* ont été inoculés avec les cultures du bouton de Delhi ; les résultats des inoculations n'ont été positifs que chez un *M. sinicus* et chez un jeune *M. cynomolgus*.

Le procédé qui m'a donné les meilleurs résultats a consisté à inoculer dans le derme, à l'aide d'un vaccinostyle, une culture riche en flagellés. Dans les 2 cas où les inoculations ont réussi, j'avais employé des cultures des premiers passages du virus provenant de l'Inde ; les repiquages multipliés ont diminué la virulence de la *L. tropica*.

Les inoculations ont été faites aux tempes ou à la face externe des cuisses ; des inoculations faites sur les muqueuses (lèvres, orifices des fosses nasales) n'ont pas réussi.

En présentant à la Société de pathologie exotique, le 9 octobre 1912, les deux singes infectés, j'ai décrit, comme il suit, les symptômes observés (2).

Après une période d'incubation dont la durée n'a pas pu être fixée exactement, les 2 singes ayant été inoculés à plusieurs reprises, on a vu apparaître de petites indurations intra-dermiques aux points d'inoculation. « L'induration qui, au début, présente à peine le volume d'un grain de millet, peut acquérir celui d'un grain de chènevis ou même d'un pois ; il n'y a ni rougeur inflammatoire, ni douleur apparente à la pression. Lorsque le bouton a pris le volume d'un grain de chènevis ou d'un pois, il s'acumine et, si on l'incise, on constate souvent qu'il existe sous l'épiderme une gouttelette d'un liquide épais, blanchâtre. Si l'incision est faite trop tôt, on ne trouve pas de

(1) F. SANT'ANNA, *Medicina contemporanea*, 24 août 1913.

(2) A. LAVERAN, *Bull. de la Soc. de path. exotique*, t. V, p. 574.



gouttelette liquide, mais seulement un tissu dense qu'il faut gratter avec le scalpel pour obtenir la matière d'un frottis.

« Les boutons non incisés, comme les boutons incisés, se recouvrent d'ordinaire de petites croûtes brunâtres qui se détachent facilement en laissant voir des ulcérations sous-jacentes. Les boutons peuvent aussi se résorber.

« Dans les frottis faits avec les croûtes ou avec la sérosité sanguinolente sous-jacente, les *Leishmania* sont rares, elles sont, au contraire, nombreuses ou assez nombreuses dans les frottis faits avec le produit de raclage du fond des ulcérations. Les parasites sont presque toujours libres, probablement parce que le raclage détruit les éléments anatomiques dans lesquels ils étaient inclus; ils ont les dimensions et l'aspect caractéristique des *L. tropica*; on trouve des formes en voie de division. »

Je résume les observations des 2 macaques qui se sont infectés.

1<sup>o</sup> Un *M. sinicus* pesant 1 kilogr. 750 est inoculé, le 9 mai 1912, avec une culture de la *Leishmania* du bouton de Delhi; l'inoculation intradermique et sous-cutanée est faite à l'aide de la seringue de Pravaz à la face externe de la cuisse droite et à la lèvre inférieure. — 1<sup>er</sup> juin, il n'y a pas d'induration aux points d'inoculation. Les 1<sup>er</sup> et 13 juin, on réinocule le singe avec une belle culture de la même *Leishmania*, à l'aide d'un vaccinostyle qui se prête mieux que la seringue de Pravaz aux inoculations intradermiques; 3 piqûres sont faites à la tempe droite, 3 à la face externe de la cuisse droite. — 23 août, deux des piqûres faites à la tempe sont le siège de nodules très nets, faciles à constater surtout lorsqu'on pince la peau à ce niveau; l'une des piqûres faites à la cuisse est également le siège d'un nodule. — 30 août, les nodules de la tempe ont grossi. — 14 septembre, les nodules de la tempe et de la cuisse ont le volume de petits pois; le nodule de la cuisse recouvert d'une croûte a bien l'aspect d'un bouton d'Orient. — 16 septembre, après avoir enlevé la croûte qui recouvre le bouton de la cuisse, je fais des frottis avec le produit du grattage de l'ulcération mise à nu. Dans ces frottis on voit, après coloration, des *Leishmania* typiques, non rares. Les parasites sont rares dans les frottis faits avec la croûte qui recouvrait l'ulcération. — 19 septembre, les nodules de la tempe, très apparents (Planche I), ne se sont pas encore ulcérés; l'ulcération de la cuisse s'est un peu élargie, une croûte se reforme à sa surface. — 21 septembre, les boutons de la tempe se sont recouverts d'une croûte; dans les frottis faits avec le produit du grattage de ces boutons (après enlèvement des croûtelles), on trouve des *Leishmania* typiques, en petit nombre. — 30 septembre, les boutons de la tempe diminuent de volume; l'ulcération de la cuisse qui mesure 1 centimètre au moins de diamètre est recouverte d'une croûte épaisse, elle a tout à fait l'aspect d'un bouton d'Orient. — Les boutons de la tempe et de la cuisse diminuent assez rapidement de volume et les ulcérations se cicatrisent; la guérison est presque complète le 30 octobre; elle est complète le 20 novembre, au point de vue des lésions cutanées, mais l'état général devient mauvais; au mois de décembre, le singe maigrit beaucoup et meurt le 25 décembre 1912.

Poids du singe, 1 kilogr. 370. La rate, petite, ne pèse que 4 grammes. Pas d'altérations macroscopiques des viscères pouvant expliquer la mort. Dans les frottis de foie, de rate et de moelle osseuse, on trouve de gros diplocoques; il n'y a pas trace de *Leishmania*.

2° Un *M. cynomolgus*, né à la singerie de l'Institut Pasteur, le 8 août 1911, est inoculé à trois reprises, le 8 juin, le 13 juillet et le 31 août 1912, avec des cultures de la *Leishmania* du bouton de Delhi; chaque inoculation comprend 3 piqûres au vaccinostyle à la face externe de la cuisse droite et 3 piqûres à la tempe du côté droit. — 19 septembre, on note, pour la première fois, des nodules à la face externe de la cuisse droite et à la tempe droite, aux points d'inoculation. Les nodules ont la grosseur de grains de millet, ils sont intradermiques. — 25 septembre, les nodules ont grossi, ils atteignent le volume de grains de chènevis; on compte 3 nodules à la tempe droite, 2 à la face externe de la cuisse droite. J'incise un des nodules de la tempe et, avec le produit du grattage du derme épaissi, mis à nu, je fais un frottis dans lequel, après coloration, je constate l'existence de *Leishmania* nombreuses, libres, probablement parce que les éléments anatomiques qui les contenaient ont été détruits par le grattage. — 2 octobre, un nouvel examen du produit de grattage du nodule, déjà examiné le 25 septembre, montre des *Leishmania* typiques, assez nombreuses. — 4 octobre, un nouveau nodule s'est formé à la face externe de la cuisse droite. L'examen de frottis du contenu d'un nodule du front et d'un nodule de la cuisse montre des *Leishmania* typiques, mais plus rares que lors des examens précédents. — 12 octobre, les 3 boutons de la tempe et les 3 boutons de la cuisse qui se sont recouverts de petites croûtes brunâtres sont toujours très apparents. — 17 octobre, un frottis fait avec le produit de grattage d'un bouton de la cuisse montre des *Leishmania* nombreuses; un frottis d'un des boutons de la tempe montre des *Leishmania* non rares. — 24 octobre, les boutons de la tempe et de la cuisse sont encore très beaux, leur aspect est bien celui de boutons d'Orient. — 30 octobre, les boutons diminuent de volume, les petites ulcérations sous-jacentes aux croûtes tendent à se cicatriser; malgré cela, des frottis faits avec un bouton de la tempe et un bouton de la cuisse montrent encore des *Leishmania* non rares. — 14 novembre, les boutons sont encore recouverts de croûtes. — 27 novembre, bien que les boutons soient tous en voie de cicatrisation, on trouve encore des *Leishmania* nombreuses dans un frottis d'un bouton de la cuisse; non rares dans un frottis d'un bouton de la tempe. — Le singe qui a toujours été malingre et qui présente des déformations rachitiques du squelette est trouvé mort le 7 décembre 1912; il pèse 5.0 gr. La rate pèse 2 grammes. Les viscères ne montrent pas d'altérations macroscopiques. Le squelette du thorax et les os des membres inférieurs présentent des déformations rachitiques très prononcées. L'examen de frottis de la rate, du foie et de la moelle osseuse ne révèle l'existence d'aucune *Leishmania*. Des tubes du milieu de Novy simplifiés ensemencés avec la rate restent stériles.

Avec le virus fourni par une souris infectée au moyen d'une culture de la *L. tropica* d'origine africaine, conservée à l'Institut Pasteur de Tunis, j'ai obtenu chez un *M. cynomolgus*, le seul qui fût à ma disposition, de très beaux boutons comme le prouve l'observation suivante.



3° Un *M. cynomolgus* femelle, du poids de 1 kilogr. 990, est inoculé le 15 octobre 1914 avec le virus fourni par le testicule droit de la souris qui fait plus loin l'objet de l'observation 4. Avec un vaccinostyle enduit de la matière virulente, je fais trois piqûres à la tempe droite, et je pratique, à la face externe de la cuisse droite, trois petites injections intra et sous-dermiques avec le produit du broyage du testicule, dilué dans un peu d'eau physiologique. — 24 octobre, à la face externe de la cuisse droite, deux des points d'inoculation, le supérieur et l'inférieur, sont le siège de nodosités intradermiques du volume de grains de chènevis. Rien d'anormal à la tempe droite. — 27 octobre, les deux nodosités de la cuisse ont grossi, elles se sont allongées suivant l'axe du membre; leur volume peut être comparé à celui de grains de blé. Les nodosités font une saillie très apparente; la peau a conservé son aspect normal. A la tempe droite, on distingue à l'œil et au palper trois petites nodosités; les deux plus grosses ont le volume de grains de chènevis. Avec une pipette fine, je ponctionne une des nodosités de la cuisse et je retire une parcelle d'une matière blanchâtre qui, examinée en frottis coloré, montre des *Leishmania* en très grand nombre, libres pour la plupart, au milieu de leucocytes mono ou polynucléés. — 1<sup>er</sup> novembre, les deux nodosités de la cuisse continuent à augmenter de volume en s'étalant, elles ont maintenant la grosseur de petites amandes et, dans l'intervalle, on distingue une troisième nodosité, plus petite, qui correspond au siège de la troisième inoculation. Les trois nodosités de la tempe ont augmenté un peu de volume. La ponction de la deuxième grosse nodosité de la cuisse donne, comme celle de la première, une gouttelette de matière blanchâtre contenant des *Leishmania* en grand nombre. — 3 novembre, les nodosités de la cuisse ont encore un peu augmenté de volume, elles forment des saillies visibles de loin; des croûtes commencent à se former à la surface, la peau brunit et se dessèche. Les nodules de la tempe diminuent de volume, des croûtelles brunâtres se sont formées aux parties saillantes; avec une de ces croûtelles que je détache, je fais un frottis dans lequel je trouve, au milieu de globules rouges et blancs, des *Leishmania* non rares. — 6 novembre, les boutons de la cuisse se couvrent de croûtes brunâtres au-dessous desquelles suinte un exsudat puriforme; une goutte de cet exsudat examinée ne contient pas de *Leishmania*. — 3 décembre, les boutons de la tempe sont complètement cicatrisés; les boutons de la cuisse sont encore apparents, mais la sérosité sanguinolente obtenue par ponction de ces boutons ne contient plus de *Leishmania*. — 21 décembre, la guérison des boutons pouvant être considérée comme complète, je réinocule le singe sur souris, dans les mêmes conditions que la première fois, mais du côté gauche. — 31 décembre, on constate aux points d'inoculation de petites élevures qui paraissent être inflammatoires; la ponction d'une de ces élevures donne une goutte de sang qui ne contient aucune *Leishmania*. — 11 janvier 1915, les petites élevures constatées à la suite de la seconde inoculation ont disparu complètement.

Il est à remarquer que, chez ce macaque, les 6 inoculations faites le 15 octobre ont donné lieu à des lésions cutanées comparables à celles du bouton d'Orient, et que l'incubation a été très courte, puisque 9 jours après l'inoculation on trouvait des nodosités au niveau des piqûres. Le virus de la souris utilisé dans cette expérience s'est montré plus actif que la culture de

la *Leishmania* du bouton de Delhi utilisée antérieurement ; les altérations cutanées produites par les deux virus ont présenté d'ailleurs la plus grande ressemblance.

SOURIS. — Delanoë a essayé sans succès d'infecter des souris en leur injectant, dans la cavité péritonéale, des cultures de *L. tropica* ; il a constaté que les flagellés devenaient rapidement la proie des phagocytes (1).

Wenyon a inoculé également sans succès des souris avec des cultures de *L. tropica* provenant d'un cas de leishmaniose cutanée d'Amérique, ou directement avec le virus du bouton (2).

Gonder a réussi, au contraire, à obtenir des infections chez les souris avec des cultures de *L. tropica* provenant de l'Institut Pasteur de Tunis et ayant subi de nombreux repiquages (3). Les cultures contenant, en grand nombre, des flagellés longs et minces se sont montrées plus virulentes que celles qui contenaient beaucoup de petites formes rondes ou ovalaires agglomérées. Le liquide de culture était mélangé à un peu d'eau physiologique et on injectait, à une souris de 20 grammes, 1 cent. cube du mélange, dans la veine ou dans le péritoine. L'injection des cultures pures dans la veine a entraîné plusieurs fois la mort des souris, après quelques minutes ou après quelques heures.

L'incubation avec la *L. tropica*, comme avec la *L. infantum*, est de plusieurs mois. Les premiers parasites ont pu être trouvés par ponction du foie, chez une souris, au bout de 1 mois ; au bout de 2 mois, chez une deuxième ; au bout de 3 à 4 mois, chez les autres.

Les souris infectées avec *L. tropica* ne montrent en général, dit Gonder, aucun symptôme pendant les premiers mois après l'inoculation, alors même que le foie et la rate sont parasités ; après 4 mois, on observe chez quelques animaux des signes très apparents, le ventre est ballonné, le foie et la rate sont hypertrophiés. Chez 2 souris qui ont succombé il y avait, dans le foie et dans la rate, une énorme quantité de parasites ; le foie avait 4 à 5 fois et la rate 10 à 12 fois le volume normal.

(1) P. DELANOE, *Soc. de Biologie*, 11 mars 1911.

(2) C.-M. WENYON, *Jl. London School trop. Med.*, avril 1913.

(3) A. GONDER, *Arch. f. Sch. u. Trop. Hyg.*, 1913, t. XVII, p. 397.



Chez les autres souris, l'hypertrophie du foie et de la rate était moins marquée ; chez 2 souris, infectées cependant, il n'y avait pas d'hypertrophie du foie ni de la rate.

Chez 4 souris, Gonder a vu survenir, 4 mois après l'inoculation, de l'œdème des pattes ; dans la sérosité de ces œdèmes, on trouvait des *Leishmania* nombreuses, libres ou intracellulaires. Des œdèmes avec *Leishmania* se sont montrés aussi aux oreilles et à la queue ; au bout de quelques jours, les parties œdématisées se nécrosaient. 2 souris, qui, avant l'apparition des œdèmes, avaient montré à la ponction du foie des *Leishmania* assez nombreuses, n'avaient plus, après formation de ces œdèmes, que des parasites rares dans le foie. Le foie et la rate avaient l'aspect normal. Une troisième souris qui avait montré un fort œdème aux pattes, à la queue et aux oreilles avait encore des parasites dans le foie, elle n'en avait plus dans la rate. Une quatrième, qui avait des ulcérations produites par les *Leishmania*, montrait en même temps des hypertrophies du foie et de la rate avec un grand nombre de *Leishmania* dans ces viscères, comme dans les ulcérations. Chez aucune des souris la moelle osseuse ne contenait de parasites.

Les ulcérations ont pris souvent un grand développement. Chez une souris, une des pattes antérieures, chez une autre les oreilles furent détruites. La queue est particulièrement atteinte ; chez une souris elle était réduite à un petit lambeau de chair. L'infection secondaire par les bactéries aggrave les accidents. Ce sont les parties du corps les moins fournies de poils qui sont les plus frappées : pattes, queue, oreilles.

Gonder n'a pu produire aucune infection par la voie sous-cutanée, chez les souris, avec les cultures de la *L. tropica* ; au contraire, avec les émulsions d'organes infectés (foie et rate) et avec les émulsions d'ulcérations il a obtenu, par cette voie, de belles infections, après une incubation de 5 à 6 semaines.

Il n'y a pas de différence notable entre les altérations du foie et de la rate dans les infections provoquées chez les souris par la *L. tropica* ou la *L. infantum* (1). Au stade initial des infections, les *L. tropica* trouvées dans le foie atteindraient des

(1) Note du Dr CREUTZFELD en *post-scriptum* au travail de GONDER.

dimensions plus grandes, d'après Gonder (jusqu'à 7  $\mu$  de long sur 4  $\mu$  de large), que les *L. infantum* (5  $\mu$  de long au maximum sur 3  $\mu$  8 de large).

R. Row a constaté l'existence d'une leishmaniose généralisée chez une souris blanche dans le péritoine de laquelle il avait injecté, à quatre reprises, des cultures de *L. tropica* (1). Ces cultures provenaient de boutons de Cambay et de Bagdad; Row utilisait seulement des cultures de 4 à 7 semaines dans lesquelles on ne voyait plus que très peu ou point de formes flagellées. La souris, sacrifiée 9 mois et 13 jours après la première inoculation, avait des lésions du foie et de la rate identiques à celles qu'on observe chez les souris infectées par la *L. Donovanii*; les *Leishmania* typiques abondaient dans la rate, dans le foie et dans la moelle osseuse. Des parcelles du foie, de la rate et de la moelle osseuse,ensemencées dans le milieu de Novy simplifié, donnèrent des cultures de flagellés caractéristiques.

Il est à noter que la souris de Row n'a présenté aucune lésion tégumentaire.

Le Dr Row a bien voulu m'envoyer des préparations de la rate, du foie et de la moelle osseuse de cette souris; j'ai constaté l'existence de *Leishmania* typiques, nombreuses dans les frottis de rate et de moelle osseuse, plus rares dans les frottis du foie. Les parasites mesuraient 2  $\mu$  à 3  $\mu$  de long, sur 1  $\mu$  25 à 2  $\mu$  de large.

Ed. Sargent a inoculé, à Alger, 6 souris blanches, dans la veine ou dans le péritoine, avec des cultures d'une *L. tropica* isolée d'un bouton de Biskra; 5 souris sacrifiées 4 mois après l'inoculation ont montré des infections généralisées, sans lésions cutanées; la sixième souris est restée indemne (2).

En 1912, j'ai essayé d'infecter des souris blanches avec la culture de *L. tropica* qui m'avait été envoyée de l'Inde par le Dr Row et qui provenait d'un bouton de Delhi; je me servais de cultures jeunes (de 12 à 15 jours) et les injections étaient faites sous la peau, dans le péritoine ou dans la veine. Sur 10 souris inoculées, à plusieurs reprises pour la plupart, aucune ne s'infecta.

(1) R. Row, *Soc. de path. exotique*, 8 avril 1914; *Indian Jl. med. Research*, avril 1914, p. 620.

(2) Ed. SERGENT, *Soc. de path. exotique*, 13 janvier 1915.



En 1914, j'ai repris ces expériences en me servant cette fois de cultures de *L. tropica* provenant de l'Institut Pasteur de Tunis (de même origine par conséquent que celles utilisées par Gonder), et ayant subi, depuis l'année 1909, un grand nombre de repiquages (1).

Dans une première série d'expériences qui a porté sur 12 souris, le liquide de culture recueilli dans des tubes du milieu de Novy simplifié a été injecté pur, à plusieurs reprises, dans le péritoine des souris; suivant le conseil de Row, je me suis servi, non de cultures jeunes, mais de cultures âgées de 4 semaines environ dans lesquelles les formes sphériques ou ovalaires, peu mobiles, étaient plus nombreuses que les longues formes flagellées bien mobiles (2).

Dans une deuxième série d'expériences, j'ai inoculé des souris dans un des testicules avec quelques gouttes de la culture de *L. tropica*.

Dans une troisième série, j'ai inoculé des souris dans le péritoine ou sous la peau avec le produit du broyage des testicules d'un meriones ou de souris infectés de *Leishmania* au moyen de cultures.

Sur 8 souris mâles, inoculées dans le péritoine avec des cultures de *L. tropica*, 7 se sont infectées et ont présenté, après une incubation qui a été de plusieurs mois chez quelques-unes, des lésions caractéristiques ayant leur siège principal dans les testicules et dans le tissu cellulo-adipeux voisin.

On peut résumer comme il suit l'évolution de l'infection (Obs. 1 à 4). Les testicules augmentent de volume et s'indurent ainsi que le tissu cellulo-adipeux voisin; les testicules s'empâtent de plus en plus et il se forme, dans la région abdominale inférieure, une tumeur oblongue, transversale par rapport à l'axe longitudinal du corps, plus ou moins dure au toucher. De petites eschares cutanées se montrent souvent au niveau de la tumeur ou bien à la queue qui peut être détruite en entier. Lorsque, à l'aide d'une pipette fine, on ponctionne la tumeur, on en retire facilement une goutte d'une sérosité dans laquelle

(1) C. NICOLLE et ED. CHATTON, *Soc. de path. exotique*, 9 décembre 1914.

(2) Les premiers résultats de ces expériences ont été communiqués à l'Académie des Sciences dans la séance du 5 octobre 1914 et à la Société de pathologie exotique dans la séance du 11 novembre 1914.

les *Leishmania* abondent. Chez les souris sacrifiées à une période avancée de l'infection, les testicules sont profondément altérés, hypertrophiés, déformés, indurés; la substance testiculaire fait place à un tissu lardacé, et les testicules sont plus ou moins englobés dans une masse néoplasique. A l'examen histologique, on trouve dans les testicules, comme dans la masse néoplasique qui les enserre, des *Leishmania* en quantité prodigieuse.

Sur 4 souris femelles inoculées, dans le péritoine, avec des cultures de *L. tropica*, 2 se sont infectées; une de ces souris a eu un bouton à la paroi abdominale, et l'infection locale s'est compliquée chez elle d'une infection générale (Obs. 5); l'autre souris infectée est encore vivante. Des deux souris notées comme non infectées, l'une qui est morte n'avait de *Leishmania* ni dans le tissu cellulo-adipeux sous-péritonéal, ni dans la rate, ni dans le foie, l'autre est encore vivante, mais ne présente aucun signe de leishmaniose.

Après avoir constaté que, chez les souris inoculées dans le péritoine avec des cultures de *L. tropica*, les parasites se multipliaient principalement dans les testicules, j'ai supposé, comme il était naturel, que l'inoculation directe dans les testicules réussirait mieux encore que l'inoculation intrapéritonéale, ce qui s'est vérifié.

5 souris inoculées, dans le testicule droit, avec quelques gouttes de culture de *L. tropica*, se sont toutes infectées. Les symptômes et les lésions ont été les mêmes qu'après l'inoculation intrapéritonéale, mais l'incubation a été beaucoup plus courte et l'évolution de l'infection a été plus rapide (Obs. 6).

Sur 9 souris mâles inoculées, dans le péritoine, avec le produit du broyage de testicules d'un meriones ou de souris infectés avec *L. tropica*, 7 ont présenté des lésions typiques localisées aux testicules et au tissu cellulo-adipeux voisin (Obs. 40), 1 est encore en vie, avec infection douteuse, 1 est morte de septicémie. La recherche des *Leishmania* dans la rate, dans le foie et dans la moelle osseuse a été négative chez toutes les souris de cette série autopsiées jusqu'ici.

De 2 souris femelles, inoculées dans les mêmes conditions que les précédentes, l'une est encore vivante et ne présente pas



de symptômes pouvant permettre d'affirmer l'existence de l'infection, l'autre est morte de septicémie.

De 4 souris mâles inoculées, dans une des cuisses, avec le produit du broyage de testicules d'un meriones ou de souris infectés avec *L. tropica*, 2 ont eu des lésions locales (tissu conjonctif et peau) qui se sont propagées aux testicules (Obs. 7), 1 a présenté des lésions testiculaires semblables à celles observées à la suite des inoculations intrapéritonéales, 1 est morte de septicémie. Dans aucun cas il n'y a eu infection générale.

Deux souris femelles inoculées, comme les précédentes, dans une des cuisses, ont présenté des lésions locales qui, chez l'une d'elles, se sont compliquées d'une infection générale (Obs. 8).

En résumé, sur 34 souris inoculées avec la *L. tropica*, 26 se sont infectées, sur lesquelles 2 seulement ont présenté une infection générale, en même temps qu'une infection locale; chez 2 souris, encore vivantes, le résultat de l'inoculation est incertain; 3 souris sont mortes de septicémie; 2 ne se sont pas infectées.

La fréquence des gangrènes cutanées explique que la septicémie soit fréquente et qu'on observe souvent l'hypertrophie de la rate chez des souris qui n'ont pas de leishmaniose généralisée. La septicémie est particulièrement fréquente chez les souris qui sont inoculées avec le produit du broyage de tumeurs testiculaires présentant déjà de petites eschares cutanées.

Tandis que le virus du kala-azar indien ou méditerranéen s'atténue à la suite du passage par souris, le virus du bouton d'Orient provenant de la souris se montre très actif. On obtient facilement des infections au moyen d'inoculations de souris à souris (Obs. 9 et 10), et les infections ainsi produites ont une incubation plus courte et une évolution plus rapide que celles qui sont provoquées au moyen des cultures de *L. tropica*; on a vu plus haut qu'un macaque et des chiens, inoculés sur souris, ont présenté des boutons bien caractérisés et que la plupart des inoculations faites dans ces conditions ont réussi, ce qui n'est pas le cas lorsqu'on opère avec les cultures de *L. tropica*.

A la suite des inoculations intrapéritonéales chez les souris mâles, ou intratesticulaires, les lésions se localisent d'ordinaire dans les testicules et dans le tissu cellulo-adipeux voisin,

comme il a été dit plus haut; à la suite des inoculations sous-cutanées, il se produit des œdèmes locaux, de la tuméfaction des ganglions lymphatiques correspondant au siège de l'inoculation, des boutons ou de petits abcès; quelquefois l'infection se généralise, ce que j'ai noté 2 fois sur 26.

Les figures 1 et 2 donnent une idée de la quantité énorme de *Leishmania* que l'on trouve dans les lésions locales. La figure 1 représente des éléments anatomiques parasités, vus dans des frottis faits avec le produit d'une ponction d'un testicule, chez une souris infectée de *L. tropica*, ou avec le tissu cellulo-adipeux voisin.



FIG. 1. — 1-5, éléments parasités dans un frottis fait avec le produit d'une ponction d'un testicule chez une souris infectée par *L. tropica*. 1, grand élément parasité. — 2-4, grands mononucléaires parasités; les éléments 3 et 4 sont bourrés de *Leishmania*; par suite, les noyaux ont été refoulés à la périphérie. — 5, polynucléaire avec 3 *Leishmania*. — 6, grande cellule du tissu conjonctif parasitée, dessinée dans un frottis fait avec le tissu cellulo-adipeux détaché au-dessus d'un testicule malade de la même souris; au milieu des éléments parasités on voit des *Leishmania* libres. — Gross., 1.000 D. environ.

La figure 2 représente des éléments anatomiques parasités dessinés dans un frottis fait avec la matière puriforme fournie par le bouton cutané de la souris qui fait l'objet de l'observation 5.

La quantité énorme des *Leishmania* explique la fréquence des gangrènes sèches. Les éléments anatomiques distendus par les parasites compriment les petits vaisseaux et l'oblitération de ces derniers entraîne la mortification des tissus.

Dans les deux cas où il y a eu infection générale, c'est dans la rate et dans le foie que les *Leishmania* ont été trouvées en plus grand nombre; dans un des cas, les parasites étaient rares

dans la moelle osseuse; dans l'autre cas, la moelle osseuse a été notée comme indemne.

Les *Leishmania* trouvées chez les souris infectées ont tous les caractères de la *L. tropica*. Les parasites sont libres ou inclus dans des éléments anatomiques (leucocytes mono ou polynucléaires, cellules endothéliales); ils ont d'ordinaire une forme ovale plus ou moins allongée et mesurent de  $2\mu$  à  $4\mu$  de long, sur  $1\mu$  à  $2\mu$  de large, parfois la forme est sphérique. Dans chaque élément, après coloration, on distingue un

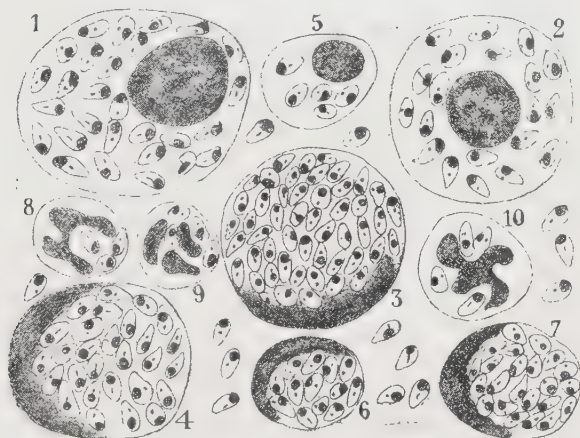


FIG. 2. — Eléments dessinés dans un frottis fait avec la matière puriforme fournie par la tumeur cutanée de la souris 5 infectée par *L. tropica*. — 1-4, grands éléments parasités; dans les éléments 3 et 4 qui sont bourrés de *Leishmania*, les noyaux sont refoulés à la périphérie. — 5, 6, 7, mononucléaires parasités. — 8, 9, 10, polynucléaires parasités. Au milieu des éléments parasités, on voit des *Leishmania* libres. Gross., 1.300 D. environ.

noyau et un centrosome souvent bacilliforme. Dans les *Leishmania* en voie de multiplication par bipartition, on voit 2 noyaux et 1 ou 2 centrosomes, suivant que la division est plus ou moins avancée. L'ensemencement dans le milieu de Novy simplifié donne facilement de belles cultures de flagellés.

La planche II représente des éléments anatomiques fortement parasités dessinés dans des frottis de lésions observées chez des souris infectées par *L. tropica* et des formes flagellées des cultures. Les éléments allongés reproduits dans la figure 9



ont été dessinés dans un frottis d'un bouton du macaque, inoculé sur souris, qui fait l'objet de l'observation 3.

Les *L. tropica* inoculées sous la peau se multiplient lentement dans le tissu conjonctif et dans les ganglions lymphatiques voisins du point d'inoculation; parfois l'infection, après inoculation dans une cuisse, gagne le tissu cellulo-adipeux abdominal et les testicules (Obs. 7); les lésions cutanées : boutons, abcès, eschares, ne sont pas rares.

Inoculées dans le péritoine, à l'état préflagellé ou à l'état flagellé, les *L. tropica* s'insinuent plus ou moins rapidement à travers le péritoine et se multiplient dans le tissu cellulo-adipeux sous-jacent; les testicules sont un de leurs lieux d'élection; ici encore les lésions cutanées et en particulier les eschares sont communes.

Il est rare que les *Leishmania* soient très nombreuses dans les ganglions lymphatiques et que ces derniers acquièrent, même au voisinage des points d'inoculation, un très gros volume.

Je résume les observations de 10 souris blanches qui ont été inoculées avec succès soit avec des cultures de *L. tropica*, soit avec le produit du broyage de viscères d'un meriones ou de souris infectés par cette *Leishmania*.

Une souris grise sauvage, inoculée dans les mêmes conditions que les souris blanches, s'est infectée comme ces dernières.

1<sup>o</sup> Une souris adulte, mâle, reçoit, dans le péritoine, les 18 et 22 mars, 1<sup>er</sup> avril, 11 mai, 31 juillet, 8 août et 4 septembre 1914 des injections de cultures de *L. tropica*; la quantité de culture injectée chaque fois varie de 0 c. c. 25 à 0 c. c. 50. Jusqu'au mois de septembre 1914, la souris ne présente rien d'anormal. Le 25 septembre, je constate qu'il existe, à la face ventrale, deux plaques brunâtres situées l'une en avant de l'anus, l'autre en avant du pénis; ces plaques qui ont l'étendue de pièces de 20 centimes environ sont indurées, parcheminées; il s'agit évidemment de foyers de gangrène sèche.

La souris est sacrifiée le 26 septembre 1914; elle pèse 18 grammes; la rate, fortement hypertrophiée, pèse 33 centigr.; au-dessous des plaques gangréneuses, on trouve un peu de pus caséux dans lequel les *Leishmania*, sont très rares. Les testicules sous-jacents sont altérés tous les deux; les altérations du testicule droit sont plus marquées que celles du testicule gauche; les testicules sont gros, fortement indurés, difficilement reconnaissables au milieu du tissu conjonctif et graisseux qui les enserme. Après avoir incisé le testicule droit, je fais des frottis qui, colorés, montrent des *Leishmania* typiques en nombre énorme, libres ou incluses dans des éléments anatomiques. Les parasites sont également très nombreux dans les frottis

faits avec un lambeau du tissu conjonctif induré détaché au-dessus du testicule droit. Les *Leishmania* se montrent beaucoup plus rares dans les frottis du testicule gauche que dans ceux du droit.

Je m'attendais à trouver des *Leishmania* dans la rate qui était fortement hypertrophiée; cette attente a été déçue, je n'ai trouvé de parasites ni dans les frottis de rate, ni dans ceux de foie et de moelle osseuse.

2° Une souris adulte, mâle, reçoit, dans le péritoine, les 1<sup>er</sup>, 8 et 15 avril, 16 mai et 21 juillet 1914, des injections de cultures de *L. tropica*. La quantité de culture injectée chaque fois varie de 0 c.c. 25 à 0 c.c. 50. Jusqu'au mois de septembre 1914, la souris ne présente rien d'anormal. Le 15 septembre, on constate une gangrène sèche de la queue qui fait de rapides progrès. Le 25 septembre, la queue est tombée en entier et il existe à la face ventrale, en avant de l'anus, une plaque de gangrène sèche de la grandeur d'une pièce de 20 centimes environ. Les poils sont tombés à ce niveau, la peau est brunâtre, sèche, parcheminée, et l'on sent au-dessous une tumeur oblongue de consistance assez ferme.

La souris dont l'état général ne paraît pas mauvais est sacrifiée le 25 septembre; elle pèse 24 grammes; la rate, fortement hypertrophiée, pèse 35 centigrammes. Les testicules qui sont gros, indurés, infiltrés d'une matière caséuse, sont enlevés avec la plaque ventrale de gangrène sèche, à laquelle ils adhèrent. Après avoir incisé les testicules, je fais des frottis qui, colorés, montrent des *Leishmania* typiques en très grand nombre; les parasites sont tantôt libres, tantôt inclus dans des éléments anatomiques. Je ne trouve de *Leishmania* ni dans les frottis de la rate, qui cependant a subi une forte hypertrophie, ni dans les frottis de foie ou de moelle osseuse.

3° Une souris adulte, mâle, reçoit, dans le péritoine, les 28 mai, 11 et 25 juin, 10 juillet et 25 août 1914, des injections de cultures de *L. tropica*; la quantité de culture injectée chaque fois varie de 0 c.c. 25 à 0 c.c. 50. Jusqu'au mois de septembre, la souris ne présente rien d'anormal. Le 1<sup>er</sup> octobre, on constate l'existence, en avant de l'anus, de deux petites taches brunâtres de la grandeur de lentilles; la peau est, au niveau de ces taches, dure, desséchée. En avant de ces points de gangrène sèche se trouve une tumeur saillante, dure, transversale par rapport à l'axe du corps, occupant l'emplacement normal des testicules.

La souris est sacrifiée le 1<sup>er</sup> octobre; elle pèse 24 grammes; la rate, fortement hypertrophiée, pèse 30 centigrammes. Après avoir incisé la paroi abdominale, on met à nu la tumeur qui est constituée par du tissu celluloadipeux très dense, induré par places et, après enlèvement de ce tissu, on distingue les deux testicules hypertrophiés, indurés, présentant une surface très irrégulière. Le tissu normal testiculaire a fait place, presque partout, à un tissu lardacé, blanchâtre. Dans les frottis du tissu de nouvelle formation qui recouvrait les testicules, et dans ceux des testicules, on trouve des *Leishmania* typiques en très grand nombre, libres ou incluses dans des éléments anatomiques qui parfois en sont littéralement bourrés. On ne voit de *Leishmania* ni dans les frottis de la rate, pourtant hypertrophiée, ni dans les frottis de foie ou de moelle osseuse.

4° Une souris adulte, mâle, reçoit, dans le péritoine, les 28 mai, 6 et 25 juin, 10 juillet et 20 août 1914, des injections de cultures de *L. tropica* de 0 c.c. 25 à 0 c.c. 50 chaque. Jusqu'au mois de septembre 1914 on ne constate rien

d'anormal. — 28 septembre, les testicules sont gros, bosselés, indurés ; il n'y a pas de lésion cutanée. — 7 octobre, les testicules sont dans le même état que le 28 septembre. — 11 octobre, on ponctionne le testicule droit et l'on obtient une gouttelette d'une matière blanchâtre, puriforme, qui contient des *Leishmania* en quantité énorme. — 14 octobre, toute la région testiculaire s'empâte, on ne distingue plus les testicules l'un de l'autre. Une goutte d'un exsudat sanguinolent obtenue par ponction de la région testiculaire est ensemencée sur milieu de Novy simplifié ; à la date du 24 octobre, on obtient une culture très belle de flagellés typiques. La souris est sacrifiée le 15 octobre 1914, elle pèse 25 grammes ; la rate pèse 11 centigrammes. Les testicules sont très gros, indurés, surtout à leur partie inférieure ; le tissu cellulo-adipeux qui entoure les testicules est également épaissi et induré par places. Dans les frottis faits avec les testicules, et avec le tissu cellulo-adipeux voisin, on trouve des *Leishmania* en quantité énorme, libres ou incluses dans des éléments anatomiques. Il n'y a de *Leishmania* ni dans la rate, ni dans le foie, ni dans la moelle osseuse.

5° Une souris adulte, femelle, reçoit, dans le péritoine, les 28 mai, 11 et 25 juin, 10 juillet et 20 août 1914, des injections de cultures de *L. tropica*. La quantité de culture pure injectée chaque fois varie de 0 c.c. 25 à 0 c.c. 50. Jusqu'au mois d'octobre 1914, la souris ne présente rien d'anormal. Le 11 octobre, on note à la paroi de l'abdomen, au niveau de la mamelle postérieure gauche, une induration de la grosseur d'un grain de chènevis, avec un point blanchâtre ; après avoir détaché l'épiderme à ce niveau, on peut enlever une parcelle de matière blanche, d'aspect caséeux, qui s'étale mal en frottis. Dans le frottis coloré, on voit des *Leishmania*, en nombre énorme, libres ou plus souvent incluses dans des éléments anatomiques (fig. 2). — 15 octobre, l'induration persiste ; petite croûte brunâtre à la surface. — 19 octobre, l'induration persiste ; au-dessous de la croûte, on trouve une goutte de liquide puriforme qui contient encore des *Leishmania*, beaucoup moins nombreuses que lors du premier examen. — 29 octobre, la petite tumeur paraît être en voie de résolution, il n'y a plus de suintement. — 2 novembre, il existe encore à la place de la tumeur une induration marquée.

La souris est trouvée morte le 5 novembre 1914, elle pèse 19 grammes ; la rate pèse 12 centigrammes. Le tissu cellulo-adipeux, situé dans l'abdomen, sur les côtés de la vessie, présente des indurations et des épaississements. Un frottis fait avec ce tissu montre des *Leishmania* en grand nombre, il en est de même d'un frottis fait avec la peau épaissie et indurée, siège de la petite tumeur abdominale. Il existe des *Leishmania* nombreuses dans le foie, non rares dans la rate, rares dans la moelle osseuse. La souris paraît avoir succombé à l'infection générale.

6° Une souris adulte est inoculée les 10, 24 et 28 octobre, dans le testicule droit, avec des cultures récentes de *L. tropica* ; on injecte chaque fois 2 gouttes de culture. — 11 novembre, le testicule droit est gros, induré. — 24 novembre, les deux testicules sont gros, indurés, empâtés. La peau présente une petite eschare sèche, brunâtre, au niveau du testicule droit. Une ponction pratiquée dans le testicule droit donne une goutte de sérosité trouble qui contient des *Leishmania* en très grand nombre. — 11 décembre, la tumeur testiculaire augmente de volume et l'eschare s'étend.

La souris est sacrifiée le 21 décembre 1914 ; elle pèse 19 grammes. Sous l'eschare, on trouve une couche de pus. Les testicules sont profondément



altérés, le droit surtout qui est à peine reconnaissable au milieu du tissu cellulo-adipeux épaissi qui l'entoure. *Leishmania* en très grand nombre dans le testicule gauche; le testicule droit déjà atteint par la suppuration n'a pas été examiné. *Leishmania* non rares dans les ganglions inguinaux qui sont hypertrophiés. La rate, fortement augmentée de volume, pèse 20 centigrammes. Il n'y a de *Leishmania* ni dans la rate, ni dans le foie, ni dans la moelle osseuse.

7° Une souris adulte, mâle, est inoculée le 30 septembre 1914, dans la cuisse gauche, avec le produit du broyage d'un testicule d'un meriones infecté de *L. tropica*. — 25 octobre, petite ulcération dans le pli de l'aîne gauche, c'est-à-dire du côté de l'inoculation. Une goutte de sérosité fournie par l'ulcération contient des *Leishmania* en grand nombre. — 29 octobre, une petite croûte s'est formée à la surface de l'ulcération. — 3 et 10 novembre, l'ulcération de l'aîne est toujours le siège d'un léger suintement. — 15 novembre 1914, la souris meurt brusquement pendant l'examen; elle pèse 20 grammes. La rate, très grosse, pèse 34 centigrammes. Les testicules ont un aspect à peu près normal. Les ganglions inguinaux sont hypertrophiés des deux côtés. L'examen des frottis colorés donne les résultats suivants: *Leishmania* nombreuses dans le tissu cellulo-adipeux œdémateux de l'aîne gauche, non rares dans le testicule gauche, très rares dans le droit. Aucun parasite dans les frottis de rate, de foie, ni de moelle osseuse.

8° Une souris adulte, femelle, est inoculée le 30 septembre 1914, dans la cuisse droite, avec le produit du broyage d'un testicule d'un meriones infecté de *L. tropica*. Jusqu'au 21 décembre, on n'observe rien d'anormal. — 21 décembre, la souris est maigre, en mauvais état.

La souris est sacrifiée le 23 décembre 1914; elle pèse 13 grammes. Les ganglions inguinaux sont hypertrophiés, le ganglion inguinal droit est plus gros que le gauche. La rate pèse 8 grammes. Dans un frottis fait avec une goutte de sérosité recueillie dans l'aîne droite, on trouve des *Leishmania* nombreuses, ainsi que dans les frottis faits avec le ganglion inguinal droit; les parasites sont moins nombreux dans le ganglion inguinal gauche. *Leishmania* non rares dans la rate, très rares dans le foie; la moelle osseuse est indemne.

9° Une souris adulte, femelle, est inoculée le 1<sup>er</sup> octobre 1914, dans la cuisse droite, avec le produit du broyage d'un testicule d'une souris infectée de *L. tropica*. — 8 octobre, un abcès qui s'est formé à la partie supérieure de la cuisse droite est ouvert. Le pus contient des bactéries en grand nombre, on n'y trouve pas de *Leishmania*. — 26 octobre, l'abcès donne encore un suintement dans lequel je constate l'existence de *Leishmania* non rares, libres ou incluses dans des éléments anatomiques. — 2 novembre, la fistule consécutive à l'abcès donne encore un peu de pus séreux dans lequel on constate, malgré l'existence de bactéries nombreuses, des *Leishmania* rares, mais typiques. — 15 novembre, l'abcès s'est reformé à la partie supérieure de la cuisse droite; le ventre est gros.

La souris est sacrifiée le 15 novembre 1915; elle pèse 22 grammes; la rate, très grosse, pèse 55 centigrammes; l'abcès qui a le volume d'une cerise fait saillie dans l'abdomen, il contient un pus très épais. Le ganglion inguinal droit est hypertrophié. Les frottis du ganglion inguinal droit contiennent des *Leishmania* non rares. On ne trouve de *Leishmania* ni dans le pus, ni dans la rate, ni dans le foie, ni dans la moelle osseuse.

10° Une souris adulte, mâle, est inoculée le 7 novembre 1914, dans le péritoine, avec le produit du broyage des testicules d'une souris infectée de *L. tropica*. — 2 janvier 1915, les testicules sont gros, empâtés; on sent des nodosités au-dessus. — 10 janvier, le produit d'une ponction du testicule droit contient des *Leishmania* en grand nombre. — 14 janvier, tumeur testiculaire typique, pas de points de gangrène.

La souris est sacrifiée le 16 janvier 1915; elle pèse 27 grammes. Les testicules sont gros, indurés, et le tissu cellulo-adipeux voisin est épaissi. La rate, augmentée notablement de volume, pèse 23 centigrammes. Les ganglions inguinaux sont hypertrophiés. *Leishmania* en grand nombre dans les testicules et dans le tissu cellulo-adipeux voisin. On ne trouve de *Leishmania* ni dans le foie, ni dans la rate, ni dans la moelle osseuse, ni dans les ganglions inguinaux.

Des résultats que j'ai obtenus chez 26 souris, je crois pouvoir conclure que la *L. tropica*, inoculée sous la peau ou dans le péritoine, produit, en général, chez la souris, des accidents et des lésions anatomiques qui diffèrent de ceux qu'on observe dans les infections dues à la *L. infantum* ou à la *L. Donovanii*.

La divergence des résultats obtenus par les différents expérimentateurs qui ont réussi à infecter les souris à l'aide de *L. tropica* peut s'expliquer par ce fait que les virus inoculés étaient plus ou moins actifs et par cet autre fait que les procédés d'inoculation employés n'ont pas été les mêmes.

RAT. — Ayant constaté que la *L. tropica* se développait avec une grande facilité dans le testicule des souris, j'ai inoculé un rat dans un testicule avec le virus fourni par une souris; l'observation résumée ci-dessous montre qu'il y a eu, chez le rat, une infection très nette localisée au testicule inoculé et au tissu cellulo-adipeux voisin.

Un jeune rat blanc et noir est inoculé le 15 octobre 1914, dans le testicule droit, avec le produit du broyage d'un testicule de la souris qui fait l'objet de l'observation 4. A cet effet, le produit du broyage est délayé dans un peu d'eau physiologique et on injecte, dans le testicule, un dixième de cent. cube du mélange. Le rat est trouvé mort le 30 octobre, il pèse 65 grammes. La rate est grosse, elle pèse 95 centigrammes, mais l'autopsie démontre que le rat était infecté de *Tr. Lewisi* (infection naturelle), ce qui explique l'hypertrophie de la rate. Le testicule droit a seulement la moitié du volume du gauche et sa consistance est diminuée. Dans les frottis faits avec le testicule droit, et avec le tissu cellulo-adipeux qui le surmonte, on trouve des *Leishmania* typiques en très grand nombre, libres ou incluses dans des éléments anatomiques. Les examens du testicule gauche, du tissu cellulo-adipeux voisin, de la rate, du foie et de la moelle osseuse sont complètement négatifs au point de vue de l'existence des *Leishmania*.

Il est à noter que, dans ce cas, les altérations testiculaires étaient très différentes de celles observées chez les souris.

Un autre rat, inoculé dans un des testicules avec des cultures de *L. tropica*, s'est infecté comme le premier.

Deux rats inoculés dans les testicules avec des cultures de *L. Donovanii* ne se sont pas infectés.

MERIONES SHAWI. — 3 *M. Shawi*, 1 mâle et 2 femelles, provenant de Tunisie, ont été inoculés, dans le péritoine, avec des cultures de *L. tropica*, vieilles de un mois environ; le mâle seul s'est infecté et a présenté des lésions identiques à celles des souris. L'une des femelles, qui avait reçu 3 injections dans le péritoine, sacrifiée en mauvais état, un mois et demi après la première inoculation, n'a pas montré trace d'infection par la *L. tropica*; l'autre femelle, qui a reçu 7 injections intrapéritonéales de cultures, vit encore et ne présente aucun signe d'infection.

Je résume l'observation du meriones mâle.

Un *Meriones Shawi*, mâle, reçoit, du 8 avril au 25 juillet 1914, dans le péritoine, 5 injections de cultures de *L. tropica*; on injecte chaque fois de 1/4 à 1/2 cent. cube de culture de 1 mois environ. — 28 septembre, les testicules sont gros, indurés; on constate l'existence d'une petite plaque de gangrène sèche à la peau qui recouvre la tumeur testiculaire. Une ponction faite le 29 septembre, dans le testicule droit, donne une goutte d'un liquide sanguinolent qui contient des *Leishmania* en très grand nombre, libres ou incluses dans des éléments anatomiques. Les parasites mesurent 3 à 4  $\mu$  de long, sur 1  $\mu$  1/2 à 2  $\mu$  de large. Les débuts de la maladie ont évidemment échappé à notre observation qui n'était pas encore éveillée sur la fréquence des lésions testiculaires dans les infections produites par *L. tropica*.

Le meriones est sacrifié le 30 septembre 1914; il pèse 100 grammes; la rate pèse 20 centigrammes. Les testicules sont gros, le droit, plus malade que le gauche, est induré à sa partie inférieure où l'on trouve un petit abcès à contenu caséeux, correspondant à l'eschare cutanée à laquelle adhère le testicule. *Leishmania* en grand nombre dans le testicule droit et dans le tissu cellulo-adipeux voisin, en moins grand nombre dans le testicule gauche. On ne trouve de parasites ni dans la rate, ni dans le foie, ni dans la moelle osseuse.

LOIR (*Myoxus glis*). — Sur 2 loirs inoculés, 1 au moins s'est infecté.

Un loir mâle est inoculé les 13, 17, 23 novembre, 2, 12, 22 et 27 décembre 1914, avec des cultures de *L. tropica*. Les 6 premières inoculations sont faites dans le péritoine, avec des cultures âgées de 1 mois environ; la



septième inoculation est faite dans la cuisse droite avec une culture jeune. On injecte chaque fois un demi cent. cube de culture très belle. — 6 janvier 1915, les testicules sont légèrement indurés. — 10 janvier, une ponction pratiquée au niveau du testicule droit donne une goutte d'un liquide sanguinolent qui contient des *Leishmania* non rares. — 14 janvier, une nouvelle ponction du testicule droit donne une goutte de liquide sanguinolent avec *Leishmania* en assez grand nombre. — 18 janvier, testicules augmentés notablement de volume et indurés.

Un autre loir, inoculé dans les mêmes conditions que le premier, présente, à la date du 18 janvier, une légère induration des testicules; l'infection est probable, non certaine encore.

**COBAYE.** — Nicolle et Manceaux ont inoculé à plusieurs reprises 2 cobayes, dans la cavité péritonéale ou dans le foie, avec des cultures de *L. tropica*; les résultats ont été négatifs.

Deux cobayes inoculés par moi dans le testicule droit avec le produit du broyage des testicules d'une souris infectée de *L. tropica* ont eu des infections limitées au testicule droit avec atrophie de ce testicule. Je résume l'observation d'un de ces cobayes.

Un cobaye est inoculé les 5 et 7 novembre 1914, dans le testicule droit, avec le produit du broyage des testicules de souris infectées de *L. tropica*. — 30 novembre, je pratique une ponction dans le testicule droit qui ne paraît pas altéré. Le frottis fait avec la goutte de sérosité trouble ainsi obtenue contient des *Leishmania* en assez grand nombre. A partir du 5 décembre, le testicule droit s'atrophie; il est plus petit que le gauche et sa consistance est diminuée. — Le cobaye est sacrifié le 25 décembre 1914; il pèse 520 gr. Le testicule gauche pèse 1 gr. 50; le testicule droit ne pèse que 65 centigrammes, il est donc fortement atrophié, sa consistance est diminuée; la coloration est normale, il n'y a pas d'injection des vaisseaux. Un frottis du testicule droit montre des *Leishmania* rares; on ne trouve de *Leishmania* ni dans le testicule gauche, ni dans la rate, ni dans le foie, ni dans la moelle des os.

#### C. — Animaux inoculés sans succès avec la *Leishmania tropica*.

**MAMMIFÈRES.** — C. Nicolle et L. Manceaux ont inoculé sans succès, avec le virus provenant directement de boutons d'Orient ou avec des cultures de *L. tropica* : 2 ânes, 1 cheval, 2 chèvres, 4 moutons, 1 lapin (1).

(1) NICOLLE et MANCEAUX, *Ann. Institut Pasteur*, septembre 1910, t. XXIV, p. 703.

Les ânes et le cheval ont été inoculés dans la peau et le tissu conjonctif sous-cutané du nez et à la partie interne de l'oreille par scarification.

Les chèvres et 2 moutons ont été inoculés dans et sous la peau du nez directement avec le virus du bouton, les 2 autres moutons ont été inoculés avec de fortes doses de cultures de *L. tropica* dans le péritoine et dans le foie.

Wenyon a inoculé sans succès des cultures de *L. tropica* à des lapins (1).

Deux lapins inoculés par moi, dans un des testicules, avec le produit du broyage des testicules d'une souris fortement parasités par *L. tropica* ne se sont pas infectés.

Un lérot (*Myoxus nitela*) et 3 gerbilles (*Gerbillus hirtipes*) inoculés à plusieurs reprises, dans le péritoine ou sous la peau, avec des cultures de *L. tropica* ne se sont pas infectés.

OISEAUX. — Nicolle et Manceaux ont inoculé sans succès, dans la cavité péritonéale, avec des cultures de la *L. tropica*, 3 moineaux et 4 pigeons.

ANIMAUX A SANG-FROID. — J'ai inoculé sans succès, dans le péritoine ou sous la peau, 3 *Lacerta viridis*, avec des cultures de *L. tropica* ou avec le résultat du broyage de produits fournis par des souris infectées.

D. — Parasites de Lacertiens et d'Insectes suceurs de sang pouvant être soupçonnés d'avoir des relations avec la *Leishmania tropica*.

Quelques faits permettent de supposer que le gecko d'Algérie, *Tarentola mauritanica*, peut servir de réservoir au virus du bouton d'Orient.

Ed. et Et. Sergent, G. Lemaire et G. Sénevet ont constaté que l'ensemencement des organes des tarentes de Biskra (Algérie) donnait, dans 15,7 p. 100 des cas, des cultures pures d'un *Herpetomonas* semblable aux *Leishmania* des cultures

(1) C.-M. WENYON, *Jl. London School of trop. med.*, avril 1913.

du bouton d'Orient (1). Les cultures du sang de ces tarentes donnent, dans 14,4 p. 100 des cas, un trypanosome à formes parfois crithidiennes, toujours bien distinct des *Herpetomonas*; il s'agit sans doute de la forme de culture du *Tr. platydictyli* que l'on trouve, à l'examen direct du sang, chez 10 p. 100 des tarentes de Biskra.

Les auteurs supposent que la tarente sert de réservoir au virus du bouton d'Orient et que le *Phlebotomus minutus africanus*, qui est commun à Biskra et qui pique l'homme et la tarente, sert au transport et à l'inoculation de la *L. tropica*.

Howett a signalé que le *Phlebotomus minutus* de l'Inde se nourrit constamment aux dépens des lacertiens et en particulier des geckos (2); Roubaud a confirmé le fait pour le *Phlebotomus minutus* var. *africanus* (3).

Au cours de ses recherches sur le bouton d'Orient, Wenyon a trouvé des *Herpetomonas* chez 6 p. 100 des *Phlebotomus* qu'il a examinés à Alep (4).

F.-P. Mackie a trouvé, aux Indes, un *Herpetomonas* assez commun chez *Phlebotomus minutus* (5).

Wenyon et Mackie pensent que ces *Herpetomonas* sont des parasites naturels des simuliés, sans rapport avec le bouton d'Orient.

Il est à noter que, dès 1909, J. Georgevitch avait décrit un trypanosomide d'une similie de Serbie sous le nom de *Crithidia simulix* (6).

Laveran et Franchini ont montré qu'on pouvait infecter des Mammifères avec des Flagellés des puces et des moustiques et qu'on trouvait, en petit nombre il est vrai, des éléments tout à fait comparables aux *Leishmania* chez les animaux ainsi infectés (7). La fréquence de ces parasites chez les simuliés, et le fait que l'existence de ces mouches a été signalée dans beaucoup de localités où le bouton d'Orient est endémique, suggère

(1) ED. et ET. SERGENT, G. LEMAIRE et G. SÉNEVET, *Soc. de path. exotique*, 8 juillet 1914.

(2) HOWETT, *Indian Jl. of med. Research*, juillet 1913.

(3) E. ROUBAUD, *Soc. de path. exotique*, 14 janvier 1914.

(4) C.-M. WENYON, *Jl. of the London Sch. of trop. med.*, 1912, t. I, p. 98.

(5) F.-P. MACKIE, *Indian Jl. of med. Research*, juillet 1914, t. II, p. 377.

(6) J. GEORGEVITCH, *Soc. de Biologie*, 13 novembre 1909

(7) A. LAVERAN et G. FRANCHINI, *Acad. des Sciences*, 1<sup>er</sup> septembre et 4 novembre 1913, 16 février et 16 mars 1914 et *Soc. de path. exotique*, 8 juillet 1914.



qu'il pourrait exister une relation entre les Flagellés des simulies et *L. tropica*.

Chatton et Blanc ont trouvé, dans le sang de 8 geckos de Metlaoui (Tunisie), de petits éléments groupés dans une vacuole occupant un des pôles du globule parasité dont le noyau est refoulé à l'autre pôle. Les parasites, en forme de fuseau ou de croissant, ont l'aspect de toxoplasmes, mais en dehors du noyau médian on trouve, comme chez les *Leishmania*, un blépharoplaste ou centrosome. Le nombre des éléments parasitaires, groupés parfois en barillet, dans un hématoblaste est de 5 à 10. Le nombre des éléments parasités est peu élevé (1).

Ces corps leishmaniformes sont-ils le point de départ des flagellés constatés par Ed. et Et. Sergent, Lemaire et Sénevet dans les milieux de cultureensemencés avec les organes des tarentes de Biskra? C'est là une question qu'il sera très intéressant d'élucider.

Au point de vue du rôle que les Reptiles peuvent jouer dans l'étiologie des leishmanioses, le fait suivant, signalé par Lindsay (2), est fort intéressant. Au Paraguay, c'est une opinion très répandue parmi les travailleurs des forêts que la buba (leishmaniose de la peau et des muqueuses) est produite par la piqure d'ixodes ou de simulies (désignées sous le nom de *mbariguies*) qui se sont nourris sur des serpents à sonnettes; quand on trouve dans la forêt un de ces serpents enroulé, on observe presque toujours une nuée de simulies au-dessus et, si on tue le serpent, on constate que des *Amblyomma striatum* adhèrent en beaucoup de points à sa peau. Pour éviter les piqures des simulies, les péones s'enduisent les bras et les jambes avec de la graisse de volailles.

#### CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

La leishmaniose naturelle du chien qui a été observée dans toutes les régions où le kala-azar méditerranéen est endémique présente la plus grande ressemblance, au point de vue des

(1) ED. CHATTON et G. BLANC, *Soc. de Biologie*, 25 juillet 1914.

(2) J.-W. LINDSAY, *Transact. of the Soc. of trop. med. a. hyg.*, juillet 1914, t. VII, p. 259.

symptômes, de l'évolution et de l'anatomie pathologique, avec la leishmaniose que l'on provoque facilement chez le chien en lui inoculant la *L. infantum*. La *Leishmania* de l'infection naturelle du chien ne peut pas être distinguée morphologiquement de la *L. infantum*.

Toutes les probabilités paraissent donc être en faveur de l'identité de la *L. infantum* et de la *Leishmania* de l'infection naturelle du chien ; il n'est pas douteux cependant qu'il existe encore des obscurités : le rapport de fréquence de la leishmaniose du chien et de la leishmaniose infantile est inconstant ; il est rare d'observer des chiens infectés de leishmaniose dans les maisons où se trouvent des malades atteints de kala-azar ; enfin le kala-azar indien étant inoculable au chien, comme le kala-azar méditerranéen, plus difficilement à vrai dire, on s'explique mal pourquoi toutes les recherches faites dans l'Inde pour découvrir des cas d'infection naturelle du chien sont demeurées infructueuses. Ces obscurités se dissiperont vraisemblablement quand nous saurons comment se propagent les *Leishmania*.

Les infections expérimentales du chien, des macaques et de la souris blanche réussissent avec la *L. Donovanii* comme avec la *L. infantum* ; les mêmes procédés d'inoculation sont applicables aux deux virus, et les infections provoquées présentent une grande ressemblance. Pour contester l'identité du kala-azar indien et du kala-azar méditerranéen, on ne peut donc plus objecter que les animaux sensibles à la *L. infantum* sont réfractaires à la *L. Donovanii*. Il y a lieu de noter toutefois que le chien est moins sensible au virus du kala-azar indien qu'à celui du kala-azar méditerranéen, et qu'on a réussi à provoquer chez des macaques, avec la *L. Donovanii*, des lésions cutanées semblables à celles du bouton d'Orient, alors que les essais d'inoculation de la *L. infantum* dans la peau ou dans le tissu conjonctif sous-cutané ont échoué jusqu'ici.

Un *M. cynomolgus* ayant l'immunité pour le kala-azar méditerranéen a été inoculé sans succès avec le virus du kala-azar indien, alors qu'un *M. cynomolgus* témoin contractait une infection rapidement mortelle ; ce fait fournit un argument de grande importance en faveur de l'identité des deux virus ;

l'expérience qui est unique est malheureusement difficile à répéter.

Il existe dans la science un certain nombre de cas de leishmaniose cutanée naturelle du chien qui paraissent relever de la *L. tropica*. La question se pose, comme pour les leishmanioses cutanées de l'homme, de savoir si la *Leishmania* américaine constitue une espèce à part ou si elle n'est qu'une simple variété de la *L. tropica*.

La *L. tropica* qui est inoculable au chien, aux macaques, à la souris blanche et à quelques autres petits Rongeurs, produit d'ordinaire chez ces animaux des affections localisées qui, chez le chien et chez les macaques, ont la plus grande ressemblance avec le bouton d'Orient de l'homme. Chez la souris, il n'est pas rare qu'on provoque par l'inoculation intrapéritonéale ou intraveineuse de la *L. tropica* des infections générales, sans lésions locales, identiques à celles qui peuvent être provoquées par la *L. infantum* ou la *L. Donovan*i; comme d'autre part on a obtenu, dans quelques cas, chez des macaques, au moyen du virus du kala-azar indien, des lésions locales, assimilables à celles du bouton d'Orient, sans infection générale, on doit se demander si la *L. tropica* n'est pas une simple variété de la *L. Donovan*i ou de la *L. infantum* qui se serait adaptée à des conditions de vie et de transmission différentes de celles de ces dernières *Leishmania*.

Il y aura lieu de poursuivre les expériences ayant pour but de rechercher si des animaux qui ont acquis une immunité solide pour la *L. tropica* peuvent être infectés par la *L. Donovan*i ou la *L. infantum* ou inversement.

Il y aura lieu également de poursuivre l'étude des parasites des Lacertiens et celle des Flagellés et des autres parasites des Insectes suceurs de sang (puces, moustiques, simuliés); on réussira peut-être ainsi à élucider la question encore si obscure de l'étiologie des leishmanioses.



## EXPLICATION DES PLANCHES

## PLANCHE I.

*Macacus sinicus* présentant des boutons d'Orient non ulcérés à la tempe droite et un bouton ulcéré à la face externe de la cuisse droite.

## PLANCHE II.

Les figures 1 à 19 représentent différents aspects de *L. tropica* dans les tissus. — 1 à 6, éléments anatomiques parasités dans un frottis fait avec le produit d'une ponction d'un testicule chez une souris infectée par *L. tropica*. — 1, 2, grands éléments parasités. — 3 à 5, grands mononucléaires parasités. — 6, polynucléaire avec 3 *Leishmania*. — 7, grande cellule du tissu conjonctif parasitée, dessinée dans un frottis fait avec le tissu cellulo-adipeux pris au-dessus du testicule de la même souris. — 8, amas de *Leishmania* simulant une forme de schizogonie. — 9, 3 *Leishmania* de forme allongée dessinées dans un frottis de bouton d'un macaque inoculé avec *L. tropica* sur souris. — 10 à 19, éléments anatomiques parasités dessinés dans un frottis fait avec le bouton de la souris qui fait l'objet de l'observation 5. — 10 à 13, grands éléments parasités; dans les éléments 12 et 13 qui sont bourrés de *Leishmania*, les noyaux sont refoulés à la périphérie. — 14 à 16, mononucléaires parasités. — 17 à 19, polynucléaires parasités. — Au milieu des éléments anatomiques parasités, on voit des *Leishmania* libres dont 2 sont en voie de division. Gross., 1.200 D. environ.

Les figures 20 à 30 représentent différents aspects de *L. tropica* dans les cultures. — 20, flagellés groupés en rosace. — 21, un flagellé isolé d'une rosace. — 22 à 25, formes flagellées longues et effilées, — 26, forme flagellée sphérique. — 27, petite forme flagellée. — 28 à 30, formes flagellées en voie de division. Gross., 1.500 D. environ.

# DEUX ÉPIDÉMIES DE FIÈVRE TYPHOÏDE

## VACCINATIONS ANTITYPHIQUES

### AU VIRUS SENSIBILISÉ VIVANT DE BESREDKA

par M. CIUCA, D. COMBIESCU, et J. BALLEANU,

Médecins de l'armée roumaine.

(Travail du Laboratoire de médecine expérimentale du Professeur CANTACUZÈNE  
et du laboratoire volant du II<sup>e</sup> corps d'armée. Bucarest.).

L'épidémie de fièvre typhoïde, qui a sévi dans deux régiments d'infanterie en des garnisons différentes, nous a procuré l'occasion d'ajouter aux mesures prophylactiques habituelles la vaccination des soldats avec *le virus sensibilisé vivant*.

En dehors du grand nombre de contre-indications des vaccins antityphiques, préparés par l'action brutale des agents physiques ou chimiques sur le microbe, des données recueillies dans les nombreuses statistiques publiées, des considérations biologiques ainsi que des faits expérimentaux nous ont déterminés à choisir le vaccin sensibilisé vivant, mis gracieusement à notre disposition par M. Besredka.

Qu'il nous soit permis de lui exprimer ici nos plus vifs remerciements.

Des essais antérieurs d'immunisation passive, appliqués par l'un de nous au traitement des cas très graves de typhoïde, ont réalisé, à notre avis, une atténuation sensible de la gravité des symptômes. Sur 15 cas choisis parmi les plus graves et traités avec de grandes quantités de sérum antityphique Besredka (300 à 400 cent. cubes dans les muscles, jusqu'à 40 cent. cubes dans la veine), l'évolution de la maladie, la marche des phénomènes immunisants, mises en évidence par des procédés bactériologiques et sérologiques, nous donnent un tableau comparable à celui présenté par un sujet préalablement vacciné et devenu typhique ultérieurement.

La mise au point faite par M. Besredka dans le *Bulletin de l'Institut Pasteur* (p. 15-16, 1913), ainsi que les Mémoires sur les vaccinations antityphiques publiés dans les *Annales de*

*l'Institut Pasteur* (août 1913, p. 880-884 et 1914), résument toute la bibliographie de cette question.

Avant d'aborder la question de la vaccination, nous allons donner un court historique des deux épidémies, qui ont sévi dans les 3<sup>e</sup> et 30<sup>e</sup> régiments d'infanterie de l'armée roumaine.

#### CONSIDÉRATIONS ÉPIDÉMIOLOGIQUES.

Vers le commencement du mois de janvier 1913, la fièvre typhoïde se déclara au 30<sup>e</sup> régiment d'infanterie (Câmpu-Lung); la marche de l'épidémie ainsi que les recherches du laboratoire volant, installé dans la caserne même, établirent nettement qu'il s'agissait d'une épidémie de contact, entretenue par des porteurs de germes. La caserne, située dans un des plus jolis endroits montagneux, au milieu d'un parc, est alimentée d'eau de source.

L'éclosion de l'épidémie coïncida avec le déversement du contenu des latrines dans la cour même de la caserne, alors complètement dépourvue d'égouts. Un lac situé dans le jardin de la caserne, et qui servait de lavoir clandestin, avait également contribué à entretenir l'épidémie.

Sur un effectif approximatif de *1.300 hommes*, on constate en deux mois *80 cas de typhoïde et 11 porteurs de germes*, dont quelques-uns étaient affectés au service des cuisines et des réfectoires; la mortalité était de 5 p. 100 de la morbidité totale.

Une enquête épidémiologique, faite par l'un de nous, vers la fin du mois de février 1913, au 3<sup>e</sup> régiment d'infanterie (Slătina), établit les causes d'une *épidémie de typhoïde avec 61 cas, en moins de 25 jours*. Bien que l'épidémie fût plutôt bénigne, la mortalité atteignit 8 p. 100 de la morbidité totale.

Le caractère spontané de l'épidémie, ainsi que la répartition uniforme des cas parmi toutes les petites unités, nous amenèrent à incriminer l'eau du puits qui alimentait la caserne. L'analyse bactériologique de l'eau du puits, de la conduite principale et des branches de distribution dans l'intérieur de la caserne, a donné les résultats suivants : plus de 100.000 colonies microbiennes par 1/10<sup>e</sup> de cent. cube; des colonies liquéfiantes, très nombreuses. Sur des milieux à glucose, on isole du



premier coup, à 40 degrés, le *B. coli*, que l'on identifie entre autres par la réaction de l'indol et les autres réactions basées sur la fermentation des sucres. Les milieux à bile, à extraits de bile et à sels biliaires, que nous considérons comme les meilleurs pour l'isolement du bacille typhique, ont donné constamment des résultats négatifs. Il n'était pas étonnant que l'eau du puits soit si chargée de matières organiques, étant donnés l'emplacement du puits et la manière dont se faisait l'alimentation de la caserne.

Situé à 50 mètres d'une mare stagnante, sur les bords de laquelle on déposait le fumier et les ordures ménagères de la ville, ce puits était creusé dans un terrain très perméable.

Deux conditions nouvelles achevèrent de saturer l'eau en matières organiques : la mare, située à proximité du puits, recevait une partie des restes de l'abattoir de la ville, et la conduite principale d'eau côtoyait l'égout de la caserne, avec lequel elle était en contact sur une longueur d'à peu près 50 mètres. En un point de cette zone de contact, par suite d'une rupture de l'égout, le terrain était infiltré par les eaux sales.

L'examen des matières fécales de tous les soldats de ce régiment a confirmé les résultats des recherches sur le terrain : *nous n'avons pas trouvé un seul porteur de germes parmi les hommes bien portants*. Les cas de typhoïde cessèrent brusquement, dès qu'on eut condamné le puits infecté et utilisé l'eau de source qui alimentait la ville. Nouvelle raison pour attribuer cette épidémie à l'eau infectée plutôt qu'au contact.

#### VACCINATION.

Convaincus de la grande utilité des vaccinations antityphiques dans l'armée, surtout dans notre pays où il y a encore des foyers endémiques de fièvre typhoïde, nous avons proposé l'application du virus vivant sensibilisé dans ces deux régiments. Le vaccin nous était envoyé concentré par 100 doses en 10 cent. cubes d'eau physiologique. Avec les dilutions faites à 1 cent. cube, nous avons pratiqué des injections à huit jours d'intervalle, la deuxième contenant la quantité double de vaccin. Les injections ont été faites dans la masse musculaire, de préférence dans la région supéro-externe de la fesse.

Comme antisepsie locale, de la teinture d'iode à 1 p. 100 avant et après l'injection.

Pour mieux nous rendre compte de la marche des réactions, nous avons pris nous-mêmes les températures, en continuant l'observation des hommes jusqu'à l'apyrexie complète.

Nous avons vacciné de cette manière, pendant l'épidémie même du mois d'avril 1913, une moitié des hommes de chaque compagnie, l'autre moitié nous servait de témoin. Il faut remarquer que les soldats d'une même compagnie vivent dans des conditions semblables (ils habitent une grande chambre commune, rarement deux; se servent du même lavabo, ont le même réfectoire, le même terrain d'exercices, etc.).

Le nombre de soldats vaccinés dans ce régiment a été de 598. On a vacciné également 31 convalescents porteurs ou non porteurs du germe et les 13 infirmes et blessés dont les soignaient.

Au 30<sup>e</sup> régiment nous avons vacciné (vers la fin du mois de mai), 624 hommes, un tiers par moitié de chaque compagnie. 22 convalescents porteurs ou non porteurs ont été également injectés. L'épidémie était, en ce moment, éteinte; le dernier cas paru remontait à plus de six semaines.

#### REACTIONS CONSTATÉES APRÈS LA VACCINATION.

Voilà le résumé de nos observations faites sur un nombre 1,110 de 1,298 vaccinés avec un nombre égal de témoins non injectés.

Une réaction locale douloureuse a été la règle; chez un grand nombre de soldats, elle a été remplacée par une faible sensation d'engourdissement du membre inférieur correspondant.

L'inflammation à l'endroit de l'injection se manifestait par une zone d'œdème, qui ne dépassait pas 3 centimètres de diamètre. Quarante-huit heures après, il n'en restait plus traces. Quelques soldats, le jour même de l'injection, vaquèrent à leurs occupations. Dans un seul cas, la réaction a duré 8 jours. Cela ne nous a pas empêché de faire la deuxième injection, qui a été d'ailleurs parfaitement supportée.

La réaction générale d'après les chiffres du tableau ci-contre

3<sup>e</sup> RÉGIMENT D'INFANTERIE

30<sup>e</sup> BATAILLON D'INFANTERIE

Noms des unités	I <sup>re</sup> injection.						II <sup>re</sup> injection.						I <sup>re</sup> injection.						II <sup>re</sup> injection.														
	Nombre total de vaccine	no. dépassant pas 37°5	Température 37°5-38°5	Température dépassant 38°5	Réaction légère	Température no. dépassant pas 37°5	Température 37°5-38°5	Température dépassant 38°5	Température no. dépassant pas 37°5	Température 37°5-38°5	Température dépassant 38°5	Réaction légère	Température no. dépassant pas 37°5	Température 37°5-38°5	Température dépassant 38°5	Température no. dépassant pas 37°5	Température 37°5-38°5	Température dépassant 38°5	Réaction légère	Température no. dépassant pas 37°5	Température 37°5-38°5	Température dépassant 38°5	Réaction légère	Température no. dépassant pas 37°5	Température 37°5-38°5	Température dépassant 38°5	Température no. dépassant pas 37°5	Température 37°5-38°5	Température dépassant 38°5	Réaction légère			
I <sup>re</sup> compagnie.	31	33	11	11	1	33	11	11	1	33	11	11	1	33	11	11	1	33	11	11	1	33	11	11	1	33	11	11	1	33	11	11	1
2 <sup>e</sup>	32	36	12	12	1	36	12	12	1	36	12	12	1	36	12	12	1	36	12	12	1	36	12	12	1	36	12	12	1	36	12	12	1
3 <sup>e</sup>	41	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1
4 <sup>e</sup>	41	38	13	13	1	38	13	13	1	38	13	13	1	38	13	13	1	38	13	13	1	38	13	13	1	38	13	13	1	38	13	13	1
5 <sup>e</sup>	49	40	14	14	1	40	14	14	1	40	14	14	1	40	14	14	1	40	14	14	1	40	14	14	1	40	14	14	1	40	14	14	1
6 <sup>e</sup>	47	33	12	12	1	33	12	12	1	33	12	12	1	33	12	12	1	33	12	12	1	33	12	12	1	33	12	12	1	33	12	12	1
7 <sup>e</sup>	49	42	14	14	1	42	14	14	1	42	14	14	1	42	14	14	1	42	14	14	1	42	14	14	1	42	14	14	1	42	14	14	1
8 <sup>e</sup>	47	40	14	14	1	40	14	14	1	40	14	14	1	40	14	14	1	40	14	14	1	40	14	14	1	40	14	14	1	40	14	14	1
9 <sup>e</sup>	49	36	14	14	1	36	14	14	1	36	14	14	1	36	14	14	1	36	14	14	1	36	14	14	1	36	14	14	1	36	14	14	1
10 <sup>e</sup>	32	41	13	13	1	41	13	13	1	41	13	13	1	41	13	13	1	41	13	13	1	41	13	13	1	41	13	13	1	41	13	13	1
11 <sup>e</sup>	31	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1
12 <sup>e</sup>	31	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1	33	13	13	1
Convalescents	31	3	16	16	1	3	16	16	1	3	16	16	1	3	16	16	1	3	16	16	1	3	16	16	1	3	16	16	1	3	16	16	1
Infirmiers.	13	8	4	4	1	8	4	4	1	8	4	4	1	8	4	4	1	8	4	4	1	8	4	4	1	8	4	4	1	8	4	4	1
Totaux.	443	411	160	160	13	411	160	160	13	411	160	160	13	411	160	160	13	411	160	160	13	411	160	160	13	411	160	160	13	411	160	160	13



s'est manifestée par un mouvement fébrile qui ne dépassait 38°5 que dans 5 p. 100 des cas; dans 15 p. 100 la fièvre oscillait entre 37°5 et 38°5; la température restait inférieure à 37°5 dans 74 p. 100 des cas.

Le *maximum de la fièvre* se manifestait *dix à douze heures après l'injection*. Dans 6 p. 100 des cas seulement l'élévation de la température a duré plus de trois à quatre jours. Chez quelques sujets nous avons observé des réactions fébriles tardives (de trente-six heures jusqu'à quatre jours après l'injection) qui duraient plus longtemps que les réactions immédiates.

Après la deuxième injection la réaction fébrile est plus fréquente qu'après la première, mais elle est moins forte. D'ailleurs il n'y a aucun rapport entre les oscillations thermiques qui se produisent chez le même individu après chacune des deux injections, comme en témoignent les deux tableaux nominaux suivants (p. 111 et 112).

La plupart des soldats qui ont fortement réagi après la première injection gardent une température inférieure à 37°5 après la deuxième.

Il est probable que les écarts de température tiennent aussi, en dehors de la sensibilité spéciale de chaque individu, aux petites variations de doses de vaccin injectées, quand on se sert de seringues de gros calibre.

*La réaction générale était particulièrement accentuée si on blessait accidentellement un petit vaisseau.* Dans tous ces cas nous avons constaté à l'endroit de l'injection un petit nodule, qui ne mettait pas plus de quatre jours pour se résoudre.

Nous avons examiné de près un grand nombre de soldats qui avaient présenté des oscillations thermiques tardives. Comme il s'agissait de jeunes soldats de vingt et un à vingt-trois ans, il n'y avait pas parmi eux d'individus atteints de maladies chroniques.

Parmi les 24 sous-officiers du 30<sup>e</sup> régiment (âgés de vingt et un à quarante-deux ans) 21 n'ont pas réagi.

Pour compléter nos observations, nous avons injecté les mêmes doses de vaccin à *quatre tuberculeux* (du service des maladies contagieuses de l'hôpital militaire « Regina Elisabeta » où l'un de nous remplissait les fonctions de médecin en

## VACCINATIONS ANTITYPHIQUES

111

3<sup>e</sup> RÉGIMENT D'INFANTERIE

## PREMIÈRE COMPAGNIE.

	AVANT LA 1 <sup>re</sup> INJECTION	1 <sup>re</sup> INJECTION (1 CENT. CUBE) Température après :							2 <sup>e</sup> INJECTION (2 C. C.) Temp. après :			
		12 heures.	24 heures.	48 heures.	72 heures.	96 heures.	120 heures.	144 heures.	9 heures.	24 heures.	33 heures.	48 heures.
1. Bastea, A.....	36°9	37°2	36°3	36°5	.....	.....	.....	36°7	37°9	38°5	37°0	36°8
2. Stan, C.....	36,5	36,4	36,5	.....	.....	.....	.....	36,8	37,5	37,6	36,8	
3. Costea, D.....	36,7	37 »	36,1	36,7	.....	.....	.....	36,8	36,5	37,1		
4. Saulescu, G.....	37,1	37,2	37,8	36,3	.....	.....	.....	36,4	36,6	36,6	36,9	
5. Popescu, A.....	37,5	37,4	37 »	37,5	37,5	36,8	.....	36,8	37,3	37,5	36,4	
6. Saulescu, I.....	37,3	36,8	38,7	36,8	.....	.....	.....	36,4	36,4	36,9	36,7	
7. Ionescu, D.....	36,2	39,5	36,4	36,7	.....	.....	.....	36,5	36,2	36,7		
8. Mrieca, I.....	37,2	37,9	37,4	36,9	.....	.....	.....	37,2	36,5	37,1	36,7	
9. Andrei, I.....	36,2	36,2	36,5	37,2	36,7	.....	.....	37,2	—	36,5	36,9	
10. Rusu, R.....	37,1	37,9	37,2	36,7	.....	.....	.....	37,7	36,8	36,5	36,9	
11. Stana, D.....	37 »	37,7	37,3	.....	.....	.....	.....	36,7	36,5	36,6	—	
12. Christian, A.....	36,7	36,7	36,6	37,7	36,2	36,8	.....	36,6	36,8	36,5	36,4	
13. Dumitran, G.....	37 »	38,5	36,8	37,2	37,9	36,5	.....	37 »	—	36,9	36,6	
14. Ionita, B.....	36,8	36,1	36,8	37,1	36,5	36,4	.....	37,4	36,9	36,5	36,9	
15. Geana, D.....	37,2	37,6	37,2	.....	.....	.....	.....	37 »	37 »	37,1	36,9	
16. Radu, T.....	37,1	37,5	36,1	.....	.....	.....	.....	36,4	36,4	36,5	36,2	
17. Marinescu, C.....	37 »	36,9	37,5	38,1	.....	.....	.....	36,4	36,5	37,1	36,9	
18. Padurar, G.....	37,6	36,9	37,4	37,6	37,4	36,9	.....	36,8	—	36,9	37,7	36,8
19. Nache, N.....	37,3	38,2	37,3	36,6	.....	.....	.....	37 »	37,2	37 »	37 »	
20. Persoiu, I.....	36,6	36,5	37,6	37,4	36,7	36,3	.....	37,4	37,9	37,6	36,4	
21. Diaconu, F.....	37 »	37,1	36,5	.....	.....	.....	.....	36,4	36,4	37,5	37 »	36,7
22. Siera, I.....	37 »	38,4	37,4	38,1	38,2	37,7	.....	37,2	37,5	37,3	36,8	
23. Popa, G.....	36,7	36,6	37,8	.....	.....	.....	.....	36,8	37,2	36,5	36,8	
24. Navalici, I.....	37,1	36,5	37,1	36,1	.....	.....	.....	36,5	37 »	36,9	37 »	36,9
25. Manea, D.....	36,6	38 »	37,5	36,7	.....	.....	.....	36,3	36,8	36,5	36,4	
26. Georgescu, P.....	37 »	37,8	38,2	38,2	37 »	37,8	37,4	36,5	37,9	36,7	37,2	36,8
27. Vanea, I.....	37,2	37,1	36,2	.....	.....	.....	.....	36,5	36,8	37,1	36,6	
28. Craca, G.....	36,7	36,7	37,5	37,8	36,7	.....	.....	36,9	37,2	37,1	37,3	36,5
29. Sandu, M.....	36,7	37,5	—	36,7	.....	.....	.....	36,6	—	38,1	37,4	36,4
30. Nita, R.....	37,4	37,8	36,5	37 »	.....	.....	.....	36,9	37,3	—		
31. Gheorghe, F.....	36,7	37,4	36,2	.....	.....	.....	.....	36,7	37,2	36,8	37,3	36,3
32. Ghenea, G.....	36,8	38,5	36,8	36,8	.....	.....	.....	37 »	37,5	37,1	36,4	
33. Cojocaru, G.....	37,1	37,2	37,3	37,2	.....	.....	.....	37,2	37,1	37,2	37,3	
34. Patrascu, I.....	36,9	38,6	—	—	37,5	36,8	.....	36,8	36,7	37,4	37,2	36,9
35. Cosma, A.....	37,3	37,1	37 »	.....	.....	.....	.....	37 »	37,9	36,8	36,6	36,9
36. Stanaia, I.....	37,1	37 »	37,5	36,5	.....	.....	.....	36,6	36,3	36,8	36,2	
37. Gealap, A.....	37,1	37,4	38,8	38,2	36,7	.....	.....	36,9	—	37,5	36,6	
38. Micu, I.....	37,8	37,1	37,3	.....	.....	.....	.....	36,8	37,1	37,4	37,2	36,7
39. Tudorascu, A.....	36,8	37,5	37 »	36,2	.....	.....	.....	36,8	37,2	37 »	36,4	
40. Dinca, M.....	36,9	38,3	37,4	36,8	.....	.....	.....	36,5	37 »	37 »	36,8	
41. Caprita, C.....	37,4	37,4	37 »	36,3	.....	.....	.....	36,5	37,4	37,2	37,1	37 »
42. Grigore, G.....	36,9	38 »	36,9	37,6	36,2	.....	.....	36,5	36,4	36,7	36,4	37 »
43. Parvan, M.....	37,3	36,8	37,1	36,8	.....	.....	.....	37 »	36,5	37,2	37,2	
44. Caracaleanu, F.....	37,4	37,4	37,2	36,2	.....	.....	.....	36,7	36,9	36,9	37,5	36,5
45. Radu, D.....	37,3	37,3	37 »	36,4	.....	.....	.....	36,8	37,3	36,8	36,5	36,7
46. Fudulu, G.....	37,3	37,6	37,4	36,8	.....	.....	.....	36,8	37,3	37,4	37,2	36,8
47. Stefanescu, D.....	37,1	37 »	36,5	36,8	.....	.....	.....	36,5	37,7	36,8	36,6	36,4
48. Craciun, B.....	—	37 »	37,8	37,8	.....	.....	.....	37 »	—	38 »	37 »	36,6
49. Dolana, I.....	37,3	—	36,8	36,8	36,3	.....	.....	36,7	37 »	38,1	36,9	
50. Vladescu, N.....	36,7	37 »	36,2	37 »	.....	.....	.....	36,5	37,2	36,7	36,2	
51. Sora, B.....	—	—	—	—	.....	.....	.....	36,8	37,6	37,3	37,1	36,3

30<sup>e</sup> RÉGIMENT D'INFANTERIE

PREMIÈRE COMPAGNIE

	AVANT LA 1 <sup>re</sup> INJECTION	1 <sup>re</sup> INJECTION (1 CENT. CUBE) Température après :						2 <sup>e</sup> INJECTION (1 C. CUBE) Température après :				
		9 heures.	24 heures.	33 heures.	48 heures.	57 heures.	168 heures.	9 heures.	24 heures.	33 heures.	48 heures.	57 heures.
1. Nitu, J. ....	36,9	39 » 38 »	37,3	36,5	36,6	36,7	37,1	37 »	37,2	36,4	36,9	36,9
2. Tiuca, M. ....	37 »	37,2 37,4	38,2	37,1	36,9	36,8	37,7	37,8	39,6	36,8		
3. Bitau, C. ....	36,2	36,9 37,1	36,9	36,1	36,2	36,3	38,4	36,9	37,4	36,8		
4. Pinaru, G. ....	39,7	37,6 37,2	37,1	36,4	36,5	36,1	36,4	36,4	37,6	36,5		
5. Colonel Dtru ...	36,4	36,8 36,8	36,8	36,3	36,3	36,3	36,4	36,5	36,5	36,7		
6. Marfu, N. ....	36,3	38,3 36 »	36,4	36,2	36,2	36,2	36,4	36,4	36,8	36,3		
7. Arasene, Gh., N.	36,2	36,5 36,7	37,4	36,3	36,6	36,3	36,4	36,6	36,7	36,6		
8. Basaraga, B. ....	36,7	37 » 36,8	36,8	36,3	36,3	36,3	38,3	37,1	36,4	36,4		
9. Muraru, N. ....	36,4	38 » 37 »	36,5	36,2	36,4	37,3	36,9	36,5	36,7	36,7		
10. Cernatescu, I. ....	36,3	36,9 36,4	36,1	36,2	36,2	36,2	37,7	36,4	36,8	36,3		
11. Bichi, C. ....	36,4	38 » 36,5	37 »	36,3	36,4	36,7	36,5	37,1	36,6	36,6		
12. Mateescu, I. ....	36,2	36,8 36,5	36,3	36,4	36,2	36,2	37,2	36,3	36,6	36,3		
13. Mitu, I. ....	36,4	37,2 36,3	36,4	36,4	36,4	36,1	37,3	36,9	37 »	36,5		
14. Carmanici, O. ....	36,6	36,7 36,8	36,5	36,3	36,5	36,5	36,5	36,4	36,7	36,3		
15. Visoiu, B. ....	36,3	37,8 36,4	36,4	36,2	36,1	38,7	36,6	36,6	36,7	36,7		
16. Olteanu, O. ....	36,7	37,1 37 »	36,8	36,4	36,4	36,4	37,3	37,3	38 »	36,6		
17. Bulgea, G. ....	36,8	37,5 37 »	36,5	36,4	36,6	36,2	37,2	37 »	36,7	36,9		
18. Bunea, J. ....	36,8	37,3 36,8	37,1	36,5	36,2	37,2	37,2	37 »	36,7	36,7		
19. Zautu, G. ....	36,8	36,4 36,4	37,1	36,4	36,7	37,8	36,6	36,8	36,3	36,3		
20. Vieru, Z. ....	37 »	36,7 36,3	37,1	36,9	36,3	36,7	36,7	36,7	36,7	36,7		
21. Sfetcu, V. ....	36,1	37,3 36,4	36,2	36,4	36,6	36,6	36,6	36,7	36,7	36,4		
22. Simioana, Gh. ....	36,3	36,2 36,3	36,8	36,2	36,4	37,4	36,4	36,8	36,5	36,5		
23. Buga, V. ....	36,4	36,8 36,5	36,3	36,4	36,4	37,6	37,6	36,4	36,4	36,6		
24. Costallu, G. ....	36,8	36,9 37,3	39,4	37,4	37,6	37,3	37 »	37,3	38,7	37,1	36,7	36,7
25. Florea, I. ....	36,4	36,6 36,6	36,8	36,8	36,2	36,2	36,3	36,4	36,7	36,8		
26. Cotauda, E. ....	36,3	38,2 36,8	36,8	36,8	36,4	37,1	37 »	36,7	36,6	36,6		
27. Madrea, V. ....	36,8	36,3 36,5	36,6	36,4	36,7	36,7	36,6	36,6	36,8	36,4		
28. Vanatorul, I. ....	36,6	36,6 36,3	36,6	36,1	36,5	36,5	37 »	36,4	36,2	36,4		
29. Maorodinescu, I.	36,3	36,5 36,3	36,4	36,4	36,2	38,7	36,9	36,5	36,3	36,3		
30. Feraru, A. ....	36,9	36,8 37,1	37,2	36,4	36,2	37,3	37,9	37,1	36,5	36,5		
31. Ionita, C. ....	36,3	36,4 36,6	36,7	36,2	36,6	37,6	37,2	36,9	36,7	36,7		
32. Glogau, G. ....	36,5	36,6 36,5	36,7	36,2	36,4	37 »	36,7	36,5	36,9	36,9		
33. Mariu, B. ....	36,7	38,8 37,3	37,1	36,5	36,9	36,9	38,4	37,1	36,2	36,4		
34. Matei, I. ....	36,3	36,9 36,3	36,3	36,4	36,4	37,8	36,3	36,6	36,6	36,6		
35. Vladescu, A. ....	36,3	36,5 36,4	36,7	36,3	36,3	37 »	36,3	36,4	36,5	36,5		
36. Dumitrescu, P. ....	36,2	36,4 37,2	36,5	36,4	36,2	37,2	36,5	36,7	36,3	36,3		
37. Bunbeneci, L. ....	36,3	36,1 37 »	36,8	36,2	36,7	38,7	37 »	36,8	36,8	36,8		
38. Nitescu, P. ....	36,3	36,2 36,3	36,5	36,3	36,8	37,4	36,5	37,3	36,4	36,4		
39. Avramescu, G. ....	36,5	36,3 36,6	36,8	36,3	36,5	37,1	37,4	36,5	36,5	36,5		
40. Cosac, P. ....	36,9	36,6 36,9	36,9	36,3	36,3	37,3	36,6	36,8	36,6	36,6		
41. Danoiu, N. ....	36,8	37 » 36,6	37,1	36,5	36,2	38,7	37,6	38,5	37,1	37 »		
42. Preoveanu, G. ....	36,4	37 » 36,8	36,8	36,6	36,4	36,7	36,8	36,5	36,6	36,6		
43. Preda, P. ....	36,7	36,7 36,4	36,3	36,5	36,5	37,1	36,3	36,3	36,5	36,5		
44. Fulga, I. ....	36,4	38,4 36,9	37,2	37,1	37 »	36,1	37,8	37,1	37,7	36,9		
45. Ghileuca, I. ....	36,7	37,1 36,3	36,9	36,8	36,4	36,8	36,5	37,3	37,3	37,3		
46. Dutescu, A. ....	36 »	36,4 36 »	36,6	36,7	36,7	36,4	36,3	36,5	37 »	37 »		
47. Ivascu, G. ....	36,7	36,9 36,2	36,5	36,2	36,2	36,4	36,4	36,4	36,8	36,4		
48. Donescu, P. ....	36,7	36,8 36,3	36,5	36,3	36,4	36,6	36,3	36,4	36,5	36,5		
49. Vasile, I. ....	36,6	36,7 36,3	36,8	36,6	36,9	37,4	37,6	39 »	48,2	37,1		
50. Andrei, G. ....	36,8	36,8 36,2	36,8	36,6	36 »	37,3	36,3	36,3	36,5	36,5		
51. Chelu, P. I. ....	36,8	36,7 36,7	37,1	36,7	36,7	36,5	36,8	37 »	37,5	37 »		
52. Safta, Gh. B. I. ....	36,4	37,7 36,3	36,6	36,8	36,1	36,3	36,8	36,8	36,4	36,4		



second) : *les oscillations fébriles n'ont pas dépassé la moyenne observée chez les soldats bien portants.*

Dix soldats atteints d'oreillons (du même service), en pleine période d'infection, ne se sont pas montrés particulièrement sensibles au vaccin.

En ce qui concerne la prétendue *hypersensibilité des vaccinés* pour l'infection typhique, il faut rappeler : 1° *qu'au 3<sup>e</sup> régiment nous avons pratiqué les injections pendant l'épidémie même et que nous n'avons constaté pendant les jours suivants aucun cas nouveau;*

2° *Que tous les malades suspects, en observation de fièvre typhoïde, à séroréaction et hémoculture négatives, ont été vaccinés sans que l'on eût constaté ultérieurement des cas de typhoïde parmi eux.*

3° *Nous n'avons eu aucun cas de typhoïde parmi les infirmiers qui les soignaient et que nous avons vaccinés en même temps.*

Dans un seul cas nous avons constaté des phénomènes d'*anaphylaxie locale* à l'endroit de la première injection, vingt-quatre heures après la deuxième injection faite dans l'autre fesse. Les phénomènes dans l'anaphylaxie se traduisaient par *œdème dur et douloureux de la région*, accompagné d'un engourdissement du membre inférieur correspondant; en trente-six heures tout était rentré dans l'ordre. Nous avons constaté également trois cas d'*urticaire généralisé* trois quarts d'heure après l'injection. Ces phénomènes, qui n'ont duré que vingt-quatre heures, n'étaient pas en rapport avec l'état général antérieur.

*Dans les selles des 31 convalescents et des 13 infirmiers appartenant tous au 3<sup>e</sup> régiment, nous n'avons jamais constaté de porteurs de germes après la vaccination.*

#### RÉSULTATS DES VACCINATIONS.

Cinq mois plus tard, au retour de l'expédition de Bulgarie, les deux régiments (vaccinés au mois d'avril et mai 1913) rentrent au milieu d'une population civile infectée par la typhoïde. Les médecins des deux régiments demandèrent du

vaccin antityphique pour les hommes témoins non vaccinés par nous au mois d'avril et mai. On leur délivra *cette fois le vaccin chauffé une heure à 60 degrés* (Kolle-Pfeiffer); le laboratoire du professeur Cantacuzène avait épuisé la quantité de sérum antityphique nécessaire à la préparation du vaccin sensibilisé, qui avait servi à la préparation de 40.000 premières doses distribuées dans d'autres garnisons et dans la population civile. La plupart des hommes non encore vaccinés aux 3<sup>e</sup> et 30<sup>e</sup> régiments d'infanterie ont donc été inoculés avec le vaccin chauffé, on a vacciné de même dans le 3<sup>e</sup> régiment les recrues de la classe 1914 (1).

Huit mois après nos vaccinations, des médecins des deux régiments ont envoyé à la Direction générale du Service sanitaire de l'armée les renseignements suivants sur l'état épidémiologique de cette période (ces dates ont été mises en parallèle avec nos tableaux) :

1° Au 3<sup>e</sup> régiment : *Pas un cas parmi les soldats vaccinés avec le virus vivant sensibilisé*; 1 cas de typhoïde (soldat Floricea (V.), 10<sup>e</sup> compagnie) parmi les témoins non vaccinés par nous. Ce malade avait reçu, un mois avant, du *vaccin chauffé*.

2° Au 30<sup>e</sup> régiment : *Aucun cas parmi les soldats vaccinés au virus sensibilisé*; 8 cas de typhoïde parmi les non vaccinés (2) (nos témoins) : Vedelcu (I.), 3<sup>e</sup> compagnie (mort); Iordachi (Ion), 9<sup>e</sup> compagnie; Gheorghe (Andrei), 7<sup>e</sup> compagnie; Spataru (I.), 8<sup>e</sup> compagnie; Stoïca (V.), compagnie des mitrailleuses; Vlad (Nic), 9<sup>e</sup> compagnie: deux malades encore parmi les soldats mobilisés de ce régiment qui ont pris la maladie en Bulgarie même.

*La recrue Caramet (V.), inoculée deux mois avant, avec le vaccin chauffé, prend la typhoïde au mois de février.*

(1) Il a été fait deux et trois injections dans l'épaisseur des muscles de la fesse (1 cent. cube, 2 cent. cubes.) 1 cent. cube d'émulsion typhique correspondait à peu près à 1/50 de culture sur gélose, donc il renfermait environ deux fois plus de microbes que 1 cent. cube de vaccin.

(2) Sur ce nombre sept cas se sont produits dans l'intervalle (mai-octobre) qui a précédé les vaccinations, avec les bacilles chauffés, chez les soldats laissés comme témoins lors de la vaccination avec le vaccin sensibilisé.

## CONCLUSIONS.

1° On n'a constaté aucun cas de typhoïde parmi les 1298 soldats vaccinés avec le virus vivant de Besredka, tandis qu'un nombre égal de témoins non vaccinés ont eu 8 cas (1 suivi de mort).

Il faut ajouter que, parmi ceux qui ont reçu du vaccin chauffé, on a constaté également 2 cas de fièvre typhoïde.

2° Il n'y a pas eu de phénomènes d'hypersensibilisation, même quand on a pratiqué la vaccination au milieu de l'épidémie.

Les porteurs de germes ne réagissent pas au vaccin autrement que les non porteurs.

3° On n'a pas constaté d'éliminations de bacilles dans les selles des 44 vaccinés qu'on a fait examiner.

# TROISIÈME NOTE SUR LA CONSERVATION DES

## « TOXINES SOLUBLES »

par V. MORAX

Il nous a paru intéressant de publier, comme suite aux deux notes de MM. Nicolle et Truche (Conservation des toxines diphtérique et tétanique et de la ricine) (1), les documents suivants concernant la *toxine botulinique*.

Cette toxine avait été préparée, en cultivant, en milieu van Ermenghem anaérobie et en présence de carbonate de chaux, le bacille du botulisme. Le ballon ensemencé le 9 novembre 1899 et placé à l'étuve à 36° a été décanté et le liquide filtré le 28 novembre, soit après 19 jours de culture.

Le filtrat possédait la toxicité que voici (injections sous-cutanées) :

### COBAYES DE 300 A 350 GR.

1/10 cent. cube. . . . .	mort en 12 heures.
1/100 cent. cube. . . . .	mort en 12 heures.
1/200 cent. cube. . . . .	mort en 2 jours.
1/500 cent. cube. . . . .	mort en 3 jours.

### LAPINS DE 1.700 A 2.500 GR.

1/50 cent. cube. . . . .	mort en 2 jours et demi.
1/100 cent. cube. . . . .	mort en 5 jours.
1/300 cent. cube. . . . .	mort en 6 jours.

Une petite quantité de filtrat a été conservée, en tube scellé complètement rempli, dans l'armoire du laboratoire et titrée de nouveau en juillet 1913 (soit après plus de 13 ans et demi). La

(1) Ces *Annales*, t. XXIV, p. 921, décembre 1910 et t. XXVI, p. 1030, décembre 1912.



toxine s'est encore montrée active ainsi que l'indique le tableau suivant :

## COBAYES DE 400 A 450 GR.

1	cent. cube.	mort en 1 jour et demi.
1/10	cent. cube.	mort en 2 jours.
1/100	cent. cube.	mort en 12 jours.

## LAPINS DE 2.000 A 2.500 GR.

1	cent. cube.	mort en 1 jour et demi.
1/10	cent. cube.	mort en 4 jours et demi.
1/100	cent. cube.	mort en 12 jours.

Les symptômes observés en 1913 comme en 1899 correspon-  
daient à la description de van Ermenghem. Donc aucune mo-  
dification qualitative du poison. Quantitativement, on reconnai-  
tra que la baisse d'activité demeure bien faible, comparée au  
long temps de conservation et à l'absence totale de soins destinés  
à combattre le fléchissement.

Forssmann dit avoir conservé la toxine botulinique 10 mois,  
en tube scellé, à l'obscurité, sans noter de modifications; c'est  
le seul document connu de nous sur la question.

*Le Gérant : G. MASSON.*





